AUS DER VIRUSABTEILUNG
DES MEDIZINISCHEN LANDESUNTERSUCHUNGSAMTES
IN STUTTGART

Direktor und Amtsleiter: Prof. Dr. med. W. Steuer
Abteilungsleiter: Prof. Dr. med. G. Enders

"DIE SERODIAGNOSE UND SEROEPIDEMIOLOGIE DER MUMPSINFEKTION"

Inaugural–Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Humanbiologie des Fachbereichs Humanmedizin
der Philipps–Universität Marburg

vorgelegt von

Susanne Kuttner–May
aus Stuttgart

Marburg 1978

1979

Aus der Virusabteilung
des Medizinischen Landesuntersuchungsamtes
in Stuttgart

Direktor und Amtsleiter: Prof.Dr.med. W. Steuer
Abteilungsleiter: Prof.Dr.med. G. Enders

"Die Serodiagnose und Seroepidemiologie der Mumpsinfektion"

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Humanbiologie des Fachbereichs Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Susanne Kuttner-May
aus Stuttgart

Marburg 1978

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am 3. März 1979

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof.Dr.med. F. Neurath
Referent: Prof.Dr.med. G. Enders
Korreferent: Prof.Dr.med. W. Slenczka

Ich möchte allen, die mich bei der Durchführung dieser Arbeit unterstützt haben, ganz herzlich danken:

Frau Dr. S. Braun, I. Bolley, H. Glück, G. Graf, A. Jäger für die sachkundige und freundschaftliche Einweisung in die verschiedenen Arbeitsgebiete.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Gisela Enders für die intensive Anleitung und Beratung bei allen aufgetretenen Schwierigkeiten. Gleichzeitig danke ich ihr für die großzügige Gewährung eines Stipendiums.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546027_0079

INHALTSVERZEICHNIS

VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN
VERZEICHNIS DER TABELLEN

1. EINLEITUNG
   1.1 Bedeutung des Mumps
   1.2 Eigenschaften des Mumpsvirus
   1.3 Pathogenese und Immunitätsentwicklung nach Mumpsinfektion
   1.4 Methoden zur Feststellung von Mumpsantikörpern und der Immunitätslage (Literaturübersicht)
      1.4.1 Hauttest
      1.4.2 Komplementbindungsreaktion (KBR)
      1.4.3 Neutralisationstest (NT)
      1.4.4 Hämagglutinationshemmtest (HAH)
      1.4.5 Indirekter Immunfluoreszenztest (IFl)
      1.4.6 Hemolysis-Inhibition-Test (HLI), Single Radial Immunodiffusion-Test (SRID), Mixed Hemadsorption-Test
      1.4.7 ^{51}Chromium-Release-Microassay
      1.4.8 Hemolysis-in-Gel-Test (HIG), Radioimmunoassay (RIA), Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)
   1.5 Gegenstand der Arbeit

2. MATERIAL
   2.1 Patienten- und Probandenseren für serologische Untersuchungen
   2.2 Viren für Antigenherstellung
   2.3 Zellkulturen
   2.4 Puffer und Medien für serologische Teste
   2.5 Kommerzielle KBR- und HAH-Antigene
   2.6 Erythrozyten für Hämagglutinations-, Hämadsorptions- und HAH-Teste
   2.7 Reagenzien für die KBR
   2.8 Reagenzien zur Entfernung unspezifischer Inhibitoren für den HAH aus Patientenseren
   2.9 Referenzseren für serologische Teste

3. METHODEN
   3.1 Herstellung der Zellkulturen
      3.1.1 Primäre FHE-Kulturen

3.1.2 Permanente Verozellkulturen
3.1.3 Primäre Cerco-Affennieren-Zellkulturen
3.2 Virusanzucht
3.2.1 Mumpsviren
3.2.2 Parainfluenzaviren
3.3 Virusinfektionstiterbestimmungen
3.3.1 Mumpsviren
3.3.2 Parainfluenzaviren
3.4 Herstellung der Virusantigene für die serologischen Teste
3.4.1 Mumpsvirus für den NT
3.4.2 Mumpsvirushämagglutinin für den HAH
3.4.3 Mumps- und Parainfluenzavirusantigene für den IFI
3.5 Durchführung der serologischen Teste
3.5.1 KBR
3.5.2 NT
3.5.2.1 Mikro-NT
3.5.2.2 Makro-NT
3.5.3 HAH
3.5.3.1 Adsorption der Patientenseren
3.5.3.2 Durchführung des HAH
3.5.4 IFI
3.5.4.1 Spezifische IgG- und IgM-Antikörperteste
3.5.5 HIG
3.5.6 ELISA

4. VERSUCHE ZUR OPTIMIERUNG DER SEROLOGISCHEN METHODEN
4.1 Antigenherstellung und Infektionstiterbestimmung
4.2 NT
4.3 HAH
4.4 IFI

5. ERGEBNISSE
5.1 Antikörperentwicklung und Persistenz nach natürlicher, frischer Mumpsinfektion
5.1.1 Patientenkollektiv
5.1.2 Antikörperentwicklung und Titerverlauf
5.1.3 Vergleich der KBR-Ergebnisse mit V-, S- und Vollantigen

5.1.4 Spezifische IgM- und IgG-Mumps-Antikörperentwicklung im IFI
5.1.5 Mumps-Antikörperentwicklung und Persistenz im HIG-Test
5.1.6 IgM- und IgG-Antikörperentwicklung und Persistenz im ELISA

5.2 Individuelle Mumps-Antikörperentwicklung und Persistenz
5.3 Homologe und heterologe Antikörper-Reaktionen bei frischer Mumpsinfektion für Mumps und Parainfluenzavirus 2
5.4 Homologe und heterologe Antikörper-Reaktionen bei frischer Parainfluenza 2 Infektion für Parainfluenza und Mumps
5.5 Mumpsantikörperentwicklung nach aktiver Schutzimpfung mit Mumps-monovalentem, bivalentem Masern-Mumps und trivalentem Masern-Mumps-Röteln-Kombinations-Lebendimpfstoff
5.5.1 Impflingskollektiv
5.5.2 Antikörperbefunde
5.5.3 Untersuchungen über heterologe Antikörper-Reaktionen für Parainfluenza 2 und Mumps nach Mumps- und Masernimpfung
5.6 Mumpsdurchseuchung und Immunitätslage
5.6.1 Probandenseren
5.6.2 Antikörperstatus im NT, HAH und IFI (IgG)
5.6.3 Antikörpertiter im NT und HAH
5.6.4 Antikörperstatus und Titerverteilung im IFI
5.6.5 Vergleich des IFI und ELISA-Testes zur Feststellung früher durchgemachter Mumpsinfektionen
5.6.6 Vergleich der Durchseuchung mit Mumps- und Parainfluenzavirus 2 in verschiedenen Altersgruppen und Untersuchungen zum Problem der Kreuz- und Mitreaktion
5.7 Vergleich der Testarten zum Nachweis von Mumpsantikörpern bei den verschiedenen Probandengruppen

6. DISKUSSION
6.1 Patienten-Antikörperverlaufsstudie
6.2 Individuelle Mumpsantikörperentwicklung und Titerverläufe
6.3 Homologe und heterologe Antikörperreaktionen für Mumps bzw. Parainfluenza
6.4 Mumpsantikörperentwicklung nach aktiver Schutzimpfung
6.5 Mumpsdurchseuchung und Immunitätslage

7. ZUSAMMENFASSUNG

8. LITERATURVERZEICHNIS

9. ABKÜRZUNGEN

VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN

Abb. 1 Häufigkeit der Krankheitsbilder in den verschiedenen Altersgruppen

Abb. 2 Antikörperstatus von 211 Patienten in KBR, NT und HAH verschieden lange nach frischer Mumpserkrankung

Abb. 3 Antikörpertiter von 211 Patienten in KBR, NT und HAH verschieden lange nach frischer Mumpserkrankung

Abb. 4 KBR-Antikörperentwicklung und -Verlauf bei 46 Mumpspatienten mit KBR-Voll-, S- und V-Antigen

Abb. 5 IgM- und IgG-Antikörperentwicklung und -Verlauf im IFl. bei 58 Mumpspatienten

Abb. 6 Mumps-Antikörperentwicklung im HIG-Test bei 32 Mumpspatienten

Abb. 7a Korrelation zwischen HIG-Durchmessern und KBR-Titern der Mumpsantikörper in 86 Rekonvaleszenten-Seren

Abb. 7b Korrelation zwischen HIG-Durchmessern und IFl.-IgG-Titern der Mumpsantikörper in 86 Rekonvaleszentenseren

Abb. 8a Mumps-IgM-Antikörperentwicklung und -Verlauf im ELISA und IFl. bei 33 Mumpspatienten

Abb. 8b Mumps-IgG-Antikörperentwicklung und -Verlauf im ELISA und IFl. bei 33 Mumpspatienten

Abb. 9a Korrelation zwischen den im ELISA und IFl. gemessenen IgM-Antikörpertitern in 52 Patientenseren

Abb. 9b Korrelation zwischen den im ELISA und IFl. gemessenen IgG-Antikörpertitern in 52 Patientenseren

Abb. 10a Mumps-Antikörperentwicklung und Titerverläufe in den verschiedenen Testarten bei 2 Kindern mit Parotitis und 2 Erwachsenen mit Parotitis und Parotitis/Orchitis

Abb. 10b Mumps-Antikörperentwicklung und Titerverläufe in den verschiedenen Testarten bei 3 Kindern mit Meningitis, Meningoenzephalitis und einem Erwachsenen mit Meningitis

Abb. 10c Mumps-Antikörperentwicklung und Titerverläufe in den verschiedenen Testarten bei 4 schwangeren Frauen mit Parotitis und Parainfluenza-2-Antikörperentwicklung im IFl. (IgM und IgG)

Abb. 11 Beziehungen zwischen Mumps- und Parainfluenza 2-IgG- und IgM-Antikörpern im IFl. bei Patienten mit frischen Mumps- bzw. frischen Parainfluenza-2-Infektionen

Abb. 12 Mumps-Antikörperstatus im NT (n=922), HAH (n=723) und IFl. (n=412) in verschiedenen Altersgruppen

Abb. 13 Mittlere NT- und HAH-Mumpsantikörpertiter in verschiedenen Altersgruppen

Abb. 14 Mumpsantikörperstatus und Titerbereiche im IFl.(IgG) in verschiedenen Altersgruppen (n=412)

Abb. 15 Korrelation zwischen den im ELISA und IFl. gemessenen IgG-Antikörpertitern in Seren von 83 Probanden nach früherer Mumpsinfektion

VERZEICHNIS DER TABELLEN

Tabelle 1 Vergleich der Titerhöhen und Ablesbarkeit (CPE und HAD) der Mumpswild- und Impfvirusstämme auf FHE- und Vero-Zellen sowie in Glaskultur-Röhrchen und Plastikmikrotiterplatten

Tabelle 2 Einfluß der Virustestdosis und der Inkubationsdauer des Virus-Serum-Gemisches auf die Neutralisationstiter im Mikrotestsystem

Tabelle 3 Übersicht über das Patientengut der Antikörper-Verlaufsstudie (211 Patienten)

Tabelle 4 Antikörperentwicklung nach natürlicher Mumpsinfektion in KBR, NT und HAH

Tabelle 5 KBR-, IF1- IgG- und IgM-Antikörpertiter für Mumps und Parainfluenzavirus 2 bei 18 Patienten mit frischer Mumpserkrankung (Parotitis/Meningitis)

Tabelle 6 KBR-, IF1-IgG-und IgM-Antikörpertiter für Parainfluenza 2 und Mumps bei Patienten mit frischer Parainfluenza 2-Erkrankung

Tabelle 7 Antikörperreaktion prävakzinal seronegativer Kinder auf Impfung mit monovalentem Mumps- und bivalentem Masern-/Mumps-Lebendimpfstoff

Tabelle 8 Antikörperreaktion prävakzinal seropositiver Kinder auf Impfung mit Mumps- und Masern/Mumps-Lebendimpfstoff

Tabelle 9 Antikörperstatus und mittlere Antikörpertiter im NT, HAH und IF1 (IgG) bei 922 Probanden verschiedener Altersgruppen

Tabelle 10 Vergleich der IF1- und ELISA-IgG-Titer bei 83 Probanden aus der Durchseuchungsstudie

Tabelle 11 IgG-Antikörpertiter für Mumps und Parainfluenza 2 bei 40 gesunden Probanden im Alter von 1 bis 32 Jahren

Tabelle 12 Vergleich der Testarten zum Nachweis von Mumps-Antikörpern bei den verschiedenen Probandengruppen

1. EINLEITUNG

1.1 Bedeutung des Mumps

Mumps ist eine kontagiöse, ubiquitäre Kinderkrankheit mit akutem Verlauf. Das Krankheitsbild ist gekennzeichnet durch eine nichteitrige Entzündung und schmerzhafte Schwellung der Speicheldrüsen, insbesondere der Ohrspeicheldrüsen.
Die Mumpsinfektion führt nur bei ca. 30 - 50 % der Erstinfizierten zu einer Erkrankung (Vivell, 1975; Stehr, 1975). In der BRD schätzt man die Zahl der jährlichen Infektionen auf ca. 600 000, darunter mindestens 200 000 Erkrankungen, d.h. es ist jährlich mit einer Erkrankung pro 300 Einwohner zu rechnen (Vivell, 1975; Mitteilungen aus dem Bundesgesundheitsamt Nr. 5, 1977). Der Erkrankungsgipfel wird bei den 4-6jährigen erreicht, während nach dem 15. Lebensjahr nur noch wenige Erkrankungen beobachtet werden (Weise, Referat 1975). Viel bedeutungsvoller als die Erkrankungshäufigkeit an Mumps (Morbidität) ist die hohe Rate an Mumps-Komplikationen (Feldman, 1976). Von ihnen sind die zentralnervösen Störungen mit Meningitis, Meningoenzephalitis, Enzephalitis die häufigsten und neben der Orchitis, die bei Knaben nach der Pubertät in 25 % auftritt, die folgenschwersten. Die ZNS-Komplikationen kommen bei Knaben häufiger vor als bei Mädchen (Verhältnis: 3:1) und zeigen eine steigende Tendenz (Vivell 1975; Ehrengut 1972)

Die Mumpsmeningitis, die an 25-50 % ohne Parotis auftreten kann, hat mit 8-12,5 % (Adair, 1953; Lennette, 1962; Lepow, 1962) den größten Anteil an dem Pool nichteitriger Meningitiden in allen Teilen der Welt (Mumps-Surveillance 1968, 1974; Deibel 1975; Bjorvatn 1974; Ocklitz 1976; Encephalitis Surveillance 1976). Mumps ist mit 12,5 - 35,9 % auch die häufigste Ursache von Enzephalitiden (Mumps-Surveillance, 1974).

Für die BRD sind statistisch gesicherte Angaben über Morbidität , Komplikationshäufigkeit und Mortalität nicht verfügbar, da keine Meldepflicht besteht. Es gibt bei uns auch keine repräsentativen Durchseuchungsstudien. Die Mumpssituation in der BRD dürfte aber

mit vergleichbaren Ländern wie der DDR und den USA, wo die Erkrankungen meldepflichtig sind und auch serologische Studien durchgeführt wurden, weitgehend übereinstimmen (Stelzner 1972, Morbidity and Mortality 1973, Mumps-Surveillance 1974). Man ist sich jedoch auch bei uns einig, daß die Häufigkeit der banalen Erkrankung, insbesondere aber die Häufigkeit der zentralnervösen Komplikationen mit ständig steigender Tendenz und deren noch vielfach unbekannten Spätfolgen, wie Taubheit, Auslösung des jugendlichen Diabetes, wie auch sozioökonomische Gesichtspunkte die Mumps-Schutzimpfung rechtfertigen (Bundesgesundheitsblatt Nr. 5, 1977, Vorsitzender der beratenden Kommission: Prof. Dr. R. Siegert). Mit der Einführung der Mumpsschutzimpfung wird es unerläßlich, über geeignete, spezifische serologische Methoden nicht nur zur Feststellung der Immunitätslage und zur Kontrolle des Impferfolges, sondern auch zur Erfassung von fraglichen Mumpskomplikationen, mumpsähnlichen Krankheitsbildern oder angeblichen Mumpszweiterkrankungen zu verfügen. Für die Entwicklung solcher serologischer Methoden und der Bewertung der damit erzielten Befunde müssen Kenntnisse über die Viruseigenschaften sowie über Pathogenese und Art der Immunantwort auf die Virusinfektion vorliegen.

1.2 Eigenschaften des Mumpsvirus

Das Mumpsvirus gehört zur Gruppe der Paramyxoviren. Das Virion hat einen Durchmesser von 100 - 140 nm. Es besitzt eine stacheltragende Hülle und ein spiralförmig angeordnetes Nukleocapsid (Horne, 1960). Das Nukleocapsid besteht aus Einzelstrang-RNA-Molekülen und 7 viruskodierten Polypeptiden (Huppertz, 1977). Es ist für die Infektiosität verantwortlich und enthält das in der KBR nachweisbare lösliche (S) Antigen. Die Virushülle besteht aus einem Komplex aus Lipoproteinen und Kohlehydraten. Die Lipoproteine stammen zum Teil von der äußeren oder inneren Membran der Wirtszelle - weshalb die Oberflächenbeschaffenheit der Viruspartikel nach dem Ort ihrer Fertigstellung und dem Kultursystem unterschiedlich sein kann. An die Strukturen der Hülle sind die Neuraminidase, die hämagglutinierenden, die hämadsorbierenden, komplementbindenden, hämolysierenden und zellfusionierenden Aktivitäten des Mumpsvirus gebunden.

Inzwischen wurde das schwere Glykoprotein VP_1 (Jensik, 1976) als Träger der Neuraminidase, des Hämagglutinins und komplementbindenden Antigens, das im Gegensatz zum S-Antigen des Nukleokapsids als V-Antigen bezeichnet wird, identifiziert. Hier soll auch die Bindungsstelle der neutralisierenden Antikörper sein. Von dem kleineren Glykoprotein VP_3 (Jensik, 1976) wird angenommen, daß es für die hämolysierende und zellfusionierende Eigenschaft des Mumpsvirus verantwortlich ist. Nur das komplette Virus ist infektionstüchtig. Es zerfällt jedoch sehr leicht spontan, sowie bei physikalischer (Temperatur, Strahlung) und chemischer Einwirkung (organische Lösungsmittel, Detergentien, pH-Wert) in inkomplette Partikel bzw. in seine Untereinheiten, die dann außer der Infektiosität noch die genannten Eigenschaften bzw. Antigen-Aktivität aufweisen können.

Das Mumpsvirus läßt sich im Brutei (Habel, 1945) und in der Gewebekultur (Weller, 1948) züchten. Als Antigene für die Serologie werden heute Amnion- und Allantoisflüssigkeit aus dem Brutei sowie Kulturüberstände aus primären (z.B. Hühnerembryofibroblasten) und vielerlei permanenten Zellkulturen (z.B. aus Hela-FL-Vero) benutzt. Bei der Vermehrung des Virus im Brutei werden Flüssigkeiten gewonnen, die infektiöse, hämagglutinierende, komplementbindende, hämolysierende und Neuraminidase-Aktivitäten enthalten. In der Zellkultur kommt es bei der Mumpsvirusvermehrung zum Auftreten eines sogenannten zytopathogenen Effektes, der durch multinukleäre Riesenzellbildung charakterisiert ist. Er wird durch die zytolytische Aktivität des Mumpsvirus, die mit der hämolysierenden Aktivität identisch ist, verursacht. Außerdem heften sich die Erythrozyten verschiedener Spezies (z.B. Meerschweinchen-, Huhn-, Affen-), die auch zum Nachweis des Hämagglutinins des Mumps- und der Parainfluenza-Viren befähigt sind, an die von der Zelloberfläche austretenden Viruspartikel an (Phänomen der Hämadsorption).

1.3 Pathogenese und Immunitätsentwicklung nach Mumpsinfektion

Die Infektion mit Mumps erfolgt durch Tröpfchen- und Schmierinfektion. Das Virus dringt über die Schleimhäute des Respirationstraktes in den Organismus ein, wo eine lokale primäre Virusvermehrung stattfindet. Nach einer 16-18tägigen Inkubationszeit kommt es dann zur 3-5 Tage dauernden Virämie (Kilham, 1948), die das Virus in die verschiedenen Speicheldrüsen, Niere, in die Hoden, Ovarien, Milchdrüsen, Pankreas und ins ZNS befördert.

Das Virus kann von ± 6 Tagen vor Auftreten der Parotisschwellung bis ± 4 bis 7 Tage danach z.B. aus Speichel, Rachenabstrichen, von dem 1. Tag der Meningitis bis 6 Tage danach aus Liquoren (Leymaster, 1947; Henle, 1947 a; Henle, 1948 c; Gordon, 1949), bis zu 5-10 Tagen aus Urin und bis zu 14 Tagen und länger nach Abklingen der Symptome aus Biopsie- oder Autopsiematerial im Brutei - heute vorwiegend auf Zellkulturen verschiedener Art - isoliert werden (Kilham, 1949; Weller, 1949; Utz, 1957, 1958; Enders-Ruckle, noch unveröffentlicht). Außerdem kann immunfluoreszenzoptisch durch Antigennachweis in Leukozyten aus frisch entnommenem Liquor die Schnelldiagnose einer Mumpsmeningitis erfolgen (Boyd, 1973; Enders-Ruckle, unveröffentlicht).

Die Infektionsabwehr bei Mumps beginnt, wie bei vielen anderen zyklischen Virusinfektionen (wie z.B. Masern) mit der Interferonproduktion (Waddell, 1968) und zellulären Immun-Reaktionen (Chiba, 1976; Rola-Pleszcynski, 1976). Bei der danach einsetzenden humoralen Immunitätsentwicklung werden Antikörper gegen die verschiedenen Antigenkomponenten und Aktivitäten des Mumpsvirus gebildet. So kommt es prinzipiell zur Entwicklung von Anti-S und Anti-V komplementbindenden (Enders, 1945 a, b; Henle, 1947 b, 1948 a, b), neutralisierenden, d.h. infektionshemmenden (Habel, 1945; Henle, 1954, 1959; Deinhardt, 1956), hämagglutinations-hämadsorptionshemmenden (Levens, 1945; Hook, 1949; Lundbäck, 1949; Henle, 1951a), hämolysin- (Norrby, 1976) und zytolyse-hemmenden (Henle, 1954) sowie im indirekten Immunfluoreszenztest (Brown, 1968) nachweisbaren Antikörpern.

Die Mumpsimmunität ist dauerhaft und Zweiterkrankungen, falls sie überhaupt vorkommen, sind selten (< 5 %). Die Mumps-Antikörper

werden durch die Plazenta auf das Kind übertragen.

1.4 Methoden zur Feststellung von Mumpsantikörpern und der Immunitätslage
(Literaturübersicht)

1.4.1 In Ermangelung anderer Methoden wurde zunächst der Hauttest mit hitzeinaktiviertem Antigen aus Mumps-infizierter Affenparotis (Enders,1943) bzw. infizierter Allantoisflüssigkeit (Habel, 1945; Henle, 1951 a) zur Feststellung einer durchgemachten Mumpsinfektion verwendet. Nach 24 - 48 Stunden wurde die Hautreaktion gemessen. Ein Durchmesser von > 15 mm-Mittel 2 cm- (Enders 1943, 1946) wurde als positiv bewertet. Bart (1973) stellte eine Korrelation von positivem Hauttest zu positiver Anamnese und positiven HAH-Titern fest. Bis heute weiß man nicht, wie lange nach primaerer Infektion der Hauttest positiv bleibt. Ein negativer oder fraglich positiver Hauttest gibt keinen sicheren Anhalt über die Immunitätslage (Brunell, 1968). Mit dem Hauttest, der eher ein Maßstab für die zelluläre Immunität ist (Nachweis der Überempfindlichkeit vom Spättyp), werden unpräzise Aussagen über die Mumps-Immunitätslage gewonnen, da er auch zur Antikörperboosterung führen kann (Enders, 1945 b, 1946; Henle, 1951 b). Wegen der unzureichenden Antigenreinheit und Standardisierung der käuflichen Präparate wird er zur Feststellung der Schutzlage heute kaum mehr angewendet, sondern durch Nachweis der humoralen Immunität ersetzt.

1.4.2 Mit der Komplementbindungsreaktion (KBR) unter Verwendung von gereinigtem V- und S-Antigen aus infizierter Amnion- und Allantoisflüssigkeit vom Brutei wurde von Henle (1948 a, b, c) gezeigt, daß Anti-S-Antikörper (AK) nach Infektionsbeginn früher nachweisbar sind als die Anti-V-Antikörper. Letztere persistieren jedoch länger, während die Anti-S-Antikörper nach einigen Monaten unter die Grenze der Nachweisbarkeit absinken. Für die Anti-V-AK fand Henle (1951 a, b, 1954) eine gute

Korrelation zum Schutz vor Mumpsinfektion. Beim Einsatz monospezifischer S- und V-Antigene in der KBR kann mit einer Blutprobe eine differentialdiagnostische Aussage über den Zeitpunkt der Mumpsinfektion gemacht werden. Die KBR wird hauptsächlich zur Diagnose frischer Infekte an zwei Serumproben benutzt.

1.4.3 Der Neutralisationstest (NT), der in den jeweils gebräuchlichen Systemen, wie bebrütetes Hühnerei (Habel, 1945; Leymaster, 1948; Gotlieb, 1953), Mäusen (Kilham, 1953) und auf Zellkulturen verschiedener Art (Deinhardt, 1956, 1964; Luzyanina, 1965; Galko, 1965; Buynak, 1966; Kenny, 1970) durchgeführt wurde, mißt die in-vitro infektionshemmenden Antikörper (Deinhardt, 1969). Heute wird der Neutraltest in Zellkulturen anstelle im Röhrchentest auch im Mikrotitertest (Kenny, 1975) und im Plaque-Reduktionstest (Flanagan, 1970; Kenny, 1975; Schwarz, 1975; Grillner, 1976) durchgeführt. Zur Beurteilung wird neben dem zytopathogenen Effekt noch der Hämadsorptionstest herangezogen.

Der Neutralisationstest ist für die Feststellung der Immunitätslage nach allgemeiner Auffassung bisher die Methode der Wahl. Seine technische Komplexität - besonders bei der Durchführung in Zellkulturröhrchen - schränkt seinen Wert bisher für die routinemäßige Anwendung erheblich ein.

1.4.4 Im Hämagglutinationshemmtest (HAH), der für Mumps vorzugsweise mit Hühnererythrozyten und Antigen aus infizierter Allantoisflüssigkeit bzw. dessen Tween-Äther-Spaltprodukt durchgeführt wird (Buynak, 1967), werden prinzipiell die gleichen Antikörperqualitäten in gleicher Empfindlichkeit gemessen wie im NT (Deinhardt, 1969).

Wegen des Vorkommens nicht spezifischer Inhibitoren für das Hämagglutinin in den Patientenseren, die sich mit keiner der gebräuchlichen Methoden - Adsorption mit Kaolin (Black, 1964)

RDE-Behandlung (Robbins, 1949; Kenny, 1975), Perjodat-Behandlung (Lennette u. Schmidt, Diagn. Procedures, 1969) - entfernen lassen, sind die Ergebnisse in Bezug auf ihre Spezifität, besonders in niederen Titerbereichen, nicht zuverlässig. Im Hinblick auf die geringen Antikörperkonzentrationen, wie sie nach Mumps-Impfung und nach länger zurückliegender Mumpsinfektion vorliegen, ist jedoch die Spezifität des HAH, gerade in niederen Titerbereichen wichtig. Aus diesen Gründen scheint der HAH weder für Durchseuchungsstudien, für die er vielfach eingesetzt wurde (Black, 1964; Levitt, 1970; Bart, 1973; Pille, 1977), noch zur Feststellung von Impferfolgen voll geeignet zu sein.

Für die Mumps-Serodiagnostik kann er jedoch zum Nachweis eines Titeranstieges ebenso angewendet werden wie die KBR.

1.4.5 Im indirekten Immunfluoreszenztest (IFI) können IgG- und IgM-Antikörper bestimmt werden. Für die Diagnostik frischer Mumps-Infektionen wurde die IgM-AK-Bestimmung bisher nur in vereinzelten Studien, meistens qualitativ, herangezogen (Cerini, 1968; Brown, 1968; Bjorvatn, 1974 b; Wolff, 1974). Wolff (1974) fand keine Korrelation zwischen dem Auftreten von IgM-AK und dem Nachweis von KBR- und HAH-AK.

Die IgG-AK sind, nach den vorliegenden Arbeiten, im Hinblick auf Auftreten und Persistenz in etwa mit den NT-Antikörpern identisch. In der bisher angewandten Form ist der IFI für routinemäßige, quantitative IgG-Antikörperbestimmungen zu umständlich und für den IgM-AK-Nachweis in Bezug auf Spezifität und Reproduzierbarkeit noch problematisch (Bjorvatn, 1974 b).

1.4.6 Neuere Testarten, wie der Hemolysis-Inhibition (HLI)-, der Single Radial Immunodiffusion (SRID)- und der Mixed Hemadsorption-Test, wurden bisher vorwiegend für die Grundlagenforschung und kaum zur Diagnostik von Mumpsinfektionen und Immunitätslagen eingesetzt (Norrby, 1976).

Mit diesen drei Testen können Antikörper gegen die oberflächenassoziierten Antigene des Mumps-Virus-Partikels, und zwar gegen die beiden Hauptbestandteile der Virushülle, das Hämagglutinin und das Hämolysin, sowie gegen zelluläres Antigen nachgewiesen werden.

Der HLI-Test entspricht in Bezug auf Empfindlichkeit dem HAH-Test und eignet sich, ebenso wie der SRID-Test, der unempfindlich gegen nicht spezifische Inhibitoren ist, zur Erfassung von Titerantiegen.

Die Mixed-Hemadsorption-Technik ist wegen der hohen Empfindlichkeit prinzipiell gut zur Bestimmung von Mumps-Immunitätslagen geeignet.

1.4.7 Der ^{51}Chromium-Release-Microassay ist eine der Methoden zum Nachweis zellulärer Immunität. Er mißt die spezifische Lymphozytotoxizität gegen Mumps-infizierte Zellen (Rola-Pleszcynski, 1976). Das Auftreten von HAH-Antikörpern korreliert gut mit dem Auftreten der im Chromium-Release-Test gemessenen zellulären Immunantwort.

1.4.8 Drei für den Mumps-AK-Nachweis noch in Erprobung befindliche Testarten sind der Hemolysis-in-Gel-Test (HIG), der Radioimmunoassay (RIA) und der Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA).

Die kürzlich entwickelte HIG-Technik kann u.a. (Influenza, Röteln) auch für den Nachweis von Mumps-AK eingesetzt werden. Es handelt sich dabei um eine im Gel ablaufende radiale passive Immunhämolyse. Dieser Test soll eine höhere Empfindlichkeit besitzen als der HAH-Test und ist, im Gegensatz zu diesem, für unspezifische Inhibitoren nicht empfindlich, so daß keine Serumvorbehandlung notwendig ist (Väänänen, 1976). Außerdem wurde eine gute Korrelation zwischen den Durchmessern der Hämolysehöfe und den in der KBR (Art des Antigens unklar) sowie den im NT gemessenen Antikörpertitern festgestellt (Grillner, 1976).

Sowohl IgG- als auch IgM-Fraktionen von Mumps-Rekonvaleszentenseren ergaben positive Reaktionen im HIG-Test, wobei das Reaktionsausmaß der IgM-Fraktion schwächer war (Grillner, 1976). Im Mumps-HIG-Test sind demnach IgG- und IgM-AK nachweisbar. Somit scheint er zur qualitativen Erfassung von Immunitätslagen und frischen Mumpsinfekten geeignet.

Mit dem RIA sind in Analogie zur Influenza-Diagnostik(Daugharty, 1972) in Seren aus der akuten und Rekonvaleszentenphase der Mumpsinfektion Antikörper der IgM- und der IgG-Klasse meßbar. Bei den Rekonvaleszentenseren wurde eine gute Korrelation zwischen IgG-AK und komplementbindenden Anti-S-AK gefunden, dagegen nicht zwischen IgG- und NT- bzw. HAH-AK (Daugharty, 1973). Bei der Bestimmung von Immunitätslagen zeigte der RIA eine dem Mumps-HAH überlegene, dem NT auf Hühnerembryofibroblasten entsprechende Empfindlichkeit (Hemandez, 1976). Nachteile des RIA sind der technische Aufwand und das Risiko des Arbeitens mit radioaktiv markierten Substanzen.

Für den ELISA-Test, der in Analogie zur Anwendung bei Röteln (Voller, 1975) und Cytomegalie (Schmitz, in Druck), Varizellen und HSV (Ziegelmeier, in Vorbereitung) jetzt erstmals auch für Masern und Mumps herangezogen wird, liegen bisher keine veröffentlichten Ergebnisse vor (Ziegelmeier, in Druck).

Das Prinzip des ELISA beruht auf der unspezifischen, physikalischen Adsorption von Antigen (oder Antikörpern) an Polystyren der Mikroplatten (oder Röhrchen) und auf der Bindung von enzymmarkierten Antikörpern an das adsorbierte Antigen oder an einen Antigen-Antikörper (aus dem Patientenserum)-Komplex. Zur Sichtbarmachung wird ein geeignetes Substrat im Überschuß hinzugegeben, das von dem gebundenen Enzym umgesetzt wird, wobei eine Verfärbung auftritt, deren Grad der Menge des gebundenen Enzyms und damit der nachzuweisenden Patientenantikörper proportional ist. Die Reaktion kann makroskopisch oder photometrisch abgelesen werden. Die Spezifität und Empfindlichkeit des ELISA wird wesentlich von der Qualität des zur Adsorption

verwendeten Antigens bzw. Antiserums beeinflußt (Engvall, 1971). Die ELISA-Methode entspricht in ihrer Empfindlichkeit der des Radioimmunoassay und ist damit anderen Methoden überlegen.

1.5 Das Ziel der Arbeit war es, eine spezifische und schnelle serologische Diagnose von Mumpsinfektionen bei Erkrankten sowie eine sichere Feststellung der Immunitätslage und des Impferfolges durch Anwendung empfindlicher und praktischer serologischer Methoden zu ermöglichen.

Der Gegenstand der vorliegenden Arbeit war es deshalb, für die angegebenen Fragestellungen

1) die konventionellen serologischen Methoden des HAH und Neutraltestes im Hinblick auf Spezifität, Reproduzierbarkeit und Praktikabilität zu verbessern,

2) von den neueren Methoden den indirekten Immunfluoreszenztest für den routinemäßigen Gebrauch einzuführen und zu standardisieren,

3) dessen Wert - im Vergleich zur KBR, dem HAH, dem NT und dem HIG-Test zu ermitteln, und

4) die mit den vorgenannten Methoden erzielten serologischen Befunde mit denjenigen noch in Erprobung befindlichen Testarten wie dem ELISA-Test zu vergleichen.

2. MATERIAL

2.1 Patienten- und Probandenseren für serologische Untersuchungen

Es wurden für diese Studie Seren von 5 Probandengruppen untersucht, die aus den diagnostischen Einsendungen der Virusabteilung des Medizinischen Landesuntersuchungsamtes, Stuttgart aus den Jahren 1973 - 1977 und aus Impfstudien stammten:

2.1.1 Erst- und Zweitseren von 211 männlichen und weiblichen Patienten im Alter von 1-55 Jahren mit frischer oder kürzlicher Mumpserkrankung. Weitere - in Einzelfällen bis zu 6 - Serumproben der 211 Patienten wurden verschieden lange nach dem angegebenen Erkrankungsbeginn (längster Zeitraum 3 Jahre) auf Anforderung von den Kliniken bzw. Hausärzten eingesandt.

2.1.2 Seren von 922 Kindern und Erwachsenen, die nicht an Mumps- oder Parainfluenzavirus-Infektionen erkrankt waren.

2.1.3 Seren von 210 15-20jährigen Mädchen aus einer Röteln-Schul-Impfstudie in Stuttgart mit Angabe der Mumpsanamnese.

2.1.4 Seren von insgesamt 120 Kindern (Alter 2 - 15 Jahre) einer Mumps-, einer Masern-Mumps- (Kölner Raum) und einer Masern-Mumps-Röteln-Impfstudie (Münchner Raum), und Seren von 7 Kindern (Alter 3 - 13 Jahre) aus einer Masern-Impfstudie (Kehl-Korker-Anstalt).

Die unter 2.1.1 und 2.1.2 aufgeführten Seren stammen vorwiegend von Patienten aus dem Stuttgarter Raum. Die Seren wurden für kurze Zeit bei 4° C und dann bis zu ihrer Austestung bei - 20° C gelagert.

2.2 Viren für Antigenherstellung

2.2.1 Mumpsviren: Mumps-Wild-Referenzvirus von Merck, Sharp und Dohme USA, ABC-M 4 3/25/63; Mumps-Virus Vaccine, Live,

Mumpsvax ^{R}, Jeryl-Lynn-Strain von Merck, Sharp u. Dohme, USA, angezüchtet auf Hühnerembryofibroblasten (Hilleman, 1967).

2.2.2 Parainfluenzavirusstämme:

Parainfluenza 1, 2, 3, 4 A, 4 B - Referenz-Virus von World Health Organization Collaborating Centre for Virus Reference and Research, Salisbury, 28/4/66, V 5122 21/4/66, V 5122 10/5/66, V 7100 28/2/73, 1o171 2/7/77. Passagen auf Affennierenzellen, SV_{40} frei.

2.3 Zellkulturen

Es wurden primäre Hühnerembryofibroblastenkulturen (FHE-Zellen), hergestellt aus 8-10 Tage alten bebrüteten, spezifisch pathogenfreien - Hühnereiern (Lohmann), permanente Verozellkulturen (African green monkey kidney) sowie primäre Affennierenzellen (Cercopithecus aethiops, von den Behringwerken in 50 % Suspension zur Verfügung gestellt) verwendet.

2.3.1 Medien für Zellkulturen

Zum Anwachsen der FHE-Zellen wurde Eagle's Minimal Essential Medium (E-MEM, Difco) mit 5 % Tryptosephosphat (2,95 %, Flow), 2 % Haemaccel (Flow), 5 % foetalem Kälberserum (PPLO-frei, Associated Biomedic Systems Inc.) und 0,1 % Natriumbikarbonat ($NaHCO_3$, CO_2-begast) verwendet; zur Erhaltung wurde das Kälberserum auf 2 % reduziert. Für Verozellkulturen wurde als Wachstumsmedium (WM) Eagle's Basal Medium (BME, Flow) mit 0,1 % Glucose, 10 % foetalem Kälberserum und 0,085 % $NaHCO_3$, als Erhaltungsmedium (EM) E-MEM mit 0,1 % Glucose, 2 % foetalem Kälberserum und 0,2 % $NaHCO_3$ verwendet.

Das Wachstumsmedium für die AN-Zellen bestand aus isotonischer, gepufferter Salzlösung (Hanks, 1949), die als Gebrauchslösung (Stammlösung 1 : 10 verdünnt) verwendet wurde, unter Zugabe von 5 g % Lactalbuminhydrolysat, 5 % Kälber-

serum und 0,06 % $NaHCO_3$; zur Erhaltung wurde kein Kälberserum zugegeben und die $NAHCO_3$-Konzentration wurde auf 0,2 % erhöht.
Alle sterilfiltrierten (Millipore-Filter: GS, HA, AP 25) Medien wurden mit 100 I.E. Penicillin G (Grünenthal) sowie 100 µg Streptomycin (Grünenthal) pro ml Medium versetzt; die Vero-Medien erhielten zusätzlich 25 µg Kanamycin-Sulfat (Grünenthal) und 12,5 I.E. Mycostatin (Squibb) pro ml.

2.3.2 Sonstige Reagenzien für Zellkulturzüchtung

Zur Zelldispersion des Hühnerembryogewebes wurde eine 0,25 % sterile Trypsinlösung (Difco) mit Ca^{++} und Mg^{++} in PBS Dulbecco A (Lennette und Schmidt, 1969) und für die Subkultivierung aller Zellen eine aus 4 Teilen Trypsinlösung (Difco) und 1 Teil Titriplex III-Lösung (Merck) bestehende sterile Trypsin-Versen-Lösung (Lennette und Schmidt, 1969) genommen.

Für die Zellzählung verwendeten wir eine 0,5 % Trypanblaulösung (Flow) in 0,85 % NaCl-Lösung und für die Mumpsantigenspaltung Tween 80 (Serva) und Diäthyläther p.a. (Merck).

2.4 Puffer und Medien für serologische Teste:

Veronal-Tabletten-Puffer (Oxoid) und Ca-Mg-Puffer (nach Lennette und Schmidt, 1969) für die KBR;

Phosphatgepufferte Salzlösung (Dulbecco und Vogt, 1954) mit Zusatz von Ca^{++} und Mg^{++} (Tablettenpuffer Oxoid), 10 min bei 0,7 atü autoklaviert), für den NT und den Ifl.; Phosphatgepufferte Salzlösung ohne Ca^{++} und Mg^{++} pH 7,2 (Lennette und Schmidt, 1969, 30 min. bei 0,7 atü autoklaviert), für den NT und den HAH;

Dextrose-Gelatine-Veronal (DGV)-Puffer (Clarke, 1958) für den HAH; M199 (Morgan 1950) mit 5 % foetalem Kälberserum, 0,085 % $NaHCO_3$ und Antibiotika (Vero-WM), sowie M 199 mit 2 % foetalem Kälberserum, 0,2 % $NaHCO_3$ und Antibiotika (Vero EM), beide sterilfiltriert, für den NT; 0,85 % NaCl-Lösung (Tabletten, Oxoid) für den HIG.

2.5 Kommerzielle KBR- und HAH-Antigene: Mumps-KBR-Gewebekultur-Antigen, aus Verozellen, lyophilisiert (Prof. Krech, Institut für Med. Mikrobiologie, St. Gallen), wie auch im Routinelabor der Virusabteilung verwendet; Mumps-Antigen für die KBR aus Allantoisflüssigkeit infizierter Hühnerembryonen (Behring); Mumps-KBR-S- und -V-Antigen, lyophilisiert (Orion Diagnostica); Parainfluenzavirus Typ 2 (CA) und Typ 3 Verozellvollantigene für die KBR, lyophilisiert (Prof. Krech, St. Gallen).

Für den Mumps-HAH wurde Mumps-Vollantigen aus Allantoisflüssigkeit infizierter Hühnerembryonen und Mumps-Tweenäther-Spaltantigen aus Allantoisflüssigkeit (Spezialanfertigungen der Behringwerke) verwendet.

2.6 Erythrozyten für HA-, Hämadsorptions- und HAH-Teste: Meerschweinchenerythrozyten (MEE), 10 % in Alsever'scher Lösung (Labor Dr. Koch, Dr. Merk); Erythrozyten von Hähnen $\leq$ 1 Jahr in Alsever'scher Lösung (Tierärztliches Landesuntersuchungsamt, Stuttgart); Erythrozyten von eintägigen, ungefütterten Küken in Alsever'scher Lösung (Labor Dr. Koch, Dr. Merk) und Affenerythrozyten (Cercopithecus aethiops), 5 % im Stabilisator, PBL-inaktiviert (Behring).

2.7 Reagenzien für die KBR

Hammelerythrozyten in Alsever'scher Lösung (Tierärztliches Landesuntersuchungsamt, Stuttgart), 5-8 Tage alt, angesetzt als 2 % Suspension in Veronalpuffer, nach Hämolysierung durch 0,1 % Na_2CO_3-Lösung photometrisch standardisiert(=543 nm); Ambozeptor Handelspräparat 1:6000, vom Kaninchen (Behring), angesetzte Stammlösung: 1:50-Verdünnung mit Ca-Mg-Puffer; Meerschweinchenkomplement, lyophil getrocknet (Behring) mit Lösungsmittel.

2.8 Reagenzien zur Entfernung unspezifischer Inhibitoren für den HAH aus Patientenseren

25% säuregewaschene Kaolinaufschwemmung (von der Fa. Behring freundlicherweise zur Verfügung gestellt). Receptor destroying Enzyme (RDE), Filtrat aus Vibrio cholerae (Behring).
Heparin-Manganchlorid: Heparin Novo 5000 I.E./ml = ca. 42 mg/ml (Novo Pharmaceutica) - 1 Teil, Manganchlorid ($MnCl_2$; 0,5 M in DGV-

Puffer) - 1 Teil, DGV-Puffer - 4 Teile.

Kaliumperjodat (KJO_4) Trockensubstanz (Merck), 1:90 M in aqua bidest.

2.9 Referenzseren für serologische Teste

Eigene: Mumps-Human-Serumpool, negativ; Mumps-Human-Serumpool, schwach positiv; Mumps-Human-Serumpool, hochtitrig positiv. Die Serumpools wurden nach Zentrifugation bei 8000 g sterilfiltriert und in 0,25 ml Portionen lyophilisiert.

Käufliche: Mumps-Virus-Antiseren (Guinea Pig) for CFT, inactivated, Titer 256 (Microbiological Associates); Mumps Immunglobulin vom Menschen (Behring); Röteln-Immunglobulin vom Menschen; Parainfluenza 1, 2, 3, 4a, 4b - Antiseren, Guinea Pig (WHO Collaborating Centre for Virus, Reference and Research, Salisbury) .

3. METHODEN

3.1 Herstellung der Zellkulturen

3.1.1 primäre FHE-Kulturen

Sie wurden in Anlehnung an die Technik von Mayr (1960) und Hilleman (1973) aus dem Rumpf 8-10 Tage alter Hühnerembryonen durch 3 x 10 min. Trypsination gewonnen. Die Trypsinate wurden jeweilig in gleicher Menge FHE-Wachstumsmedium aufgenommen, vereinigt, durch Vierfach-Mull filtriert und bei 800 g abzentrifugiert. Mit dem Zellsediment wurde eine Suspension von 100 000 Zellen pro ml FHE-Wachstumsmedium hergestellt und in Rouxkolben (60 ml) und in Röhrchen (1 ml) eingesät. Nach 24-48 stündiger Bebrütung bei 37° C war der Zellrasen dicht. Das Wachstumsmedium wurde durch Erhaltungsmedium ersetzt und die weitere Bebrütung erfolgte bei 34° C.

3.1.2 permanente Verozellkulturen

4-5 Tage alte Verozellrasen in Rouxkolben wurden durch Trypsin-Versen-Lösung abgelöst. Je nach Verwendungszweck wurden Zellsuspensionen in Wachstumsmedium von 100 000 Zellen/ml für Rouxkolben, 400 000 Zellen/ml für Glasrollerflaschen (Fa. Bellco, Wachstumsfläche: 950 cm^2) und 170 000 Zellen/ml für Röhrchen hergestellt. Die Rouxkolben, Rollerflaschen und Röhrchen wurden mit jeweils 60 ml bzw. 200 ml bzw. 1 ml der genannten Zellsuspension beschickt.
Nach 24 Stunden Bebrütung bei 37° C - die Rollerflaschen wurden dabei mit einer Umdrehungsgeschwindigkeit von 0,75 Upm gedreht - wurde das Wachstumsmedium durch Erhaltungsmedium ersetzt.

3.1.3 primäre Cerco-Affennieren-Zellkulturen

Die AN-Zellkultursuspension wurde auf 250 000 Zellen pro ml AN-Wachstumsmedium eingestellt und 0,9 ml Volumen in Röhrchen bzw. 12 ml in Glasvierkantflaschen eingesät. Nach 5-7 Tagen Bebrütung bei 37° C war der Zellrasen dicht und das Wachstumsmedium wurde durch AN-Erhaltungsmedium ersetzt.

3.2 Virusanzucht

3.2.1 Mumpsviren

Die Mumpswild- und Impfvirusreferenzstämme wurden zunächst unverdünnt in o,1 ml auf je 4 FHE- und Verozellkulturröhrchen verimpft. Die Inkubation erfolgte bei 34° bzw. 37° C. Ein, drei und fünf bis sechs Tage nach Beimpfung wurde das Medium erneuert. Nach Ausbildung eines durch mehrkernige Riesenzellen gekennzeichneten cytopathischen Effektes, der in FHE-Zellen nach acht bis zehn Tagen und in Verozellen nach sechs Tagen gut sichtbar war, wurden die Überstände geerntet. Damit wurde eine 2. Passage in Röhrchen und eine 3. Passage mit 1,5 ml des infektiösen Überstandes in Rouxkolben durchgeführt. Die geernteten Überstände der Rouxkolben wurden als Saatvirus in 1,o ml Portionen bei -70° gelagert.

3.2.2 Parainfluenzaviren

Mit dem Parainfluenzavirustyp 1 wurden in o,o2 ml bzw. mit den Typen 2, 3, 4 a und 4 b Referenzstämmen wurden in o,2 ml Volumen je 3 primäre AN- und 3 Verozellkulturröhrchen beimpft und bei 37° C inkubiert. Die Parainfluenzaviren Typ 2 und 3 verursachten in der 2. Passage nach 8 Tagen bzw. 6 Tagen einen gut sichtbaren CPE auf AN- und Verozellen. Mit je 1,5 ml der Überstände wurde eine 3. Passage auf Rouxkolben durchgeführt und deren Überstände dann bei - 70° C eingefroren. Mit den Parainfluenzaviren Typ 1 und 4 a und b, die nur in AN, nicht aber in Verozellen einen mehr oder weniger ausgeprägten CPE hervorriefen, wurden 2 weitere Passagen auf AN-Vierkantflaschen durchgeführt und die Überstände bei - 70° C gelagert.

3.3 Virusinfektionstiterbestimmungen

3.3.1 Mumpsviren

Die Infektionstiter für das auf FHE und Verozellkulturen angezüchtete Mumpswild- und Impfsaatvirus wurden in FHE- und Verozell-Röhrchen und Mikrotiterplatten (Greiner Flachboden-Mikrotiterplatten Nr. Mm 22o-2o Art) bestimmt.

Für den Röhrchentest wurden mit dem Virus zehnfache Verdünnungsreihen in Erhaltungsmedium hergestellt und auf je 5 Röhrchen mit o,9 ml Erhaltungsmedium o,1 ml der jeweiligen Virusverdünnung verimpft. Die Inkubation erfolgte mit 1-2maligem Mediumwechsel für die FHE-Röhrchen 1o Tage bei 34^{o} C und für die Verokulturröhrchen 6 Tage bei 37^{o} C. Die Titer wurden anhand des CPE und des HAD ermittelt. Nach Ablesen des cytopathischen Effektes im Leitz-Mikroskop,Laborlux (3,5 x 1O) wurde aus den Röhrchen das Medium entfernt, die Zellrasen 1 x mit PBS pH 7.2 gewaschen, und o,5 ml der o,5 % MEE-Suspension - oder in Vorversuchen von o,25 % Küken-, o,5 % Huhn-, o,5 % Cercoerythrozytensuspension zugegeben. Nach Inkubation für 2o min. bei Raumtemperatur wurde der Hämadsorptionseffekt im Umkehrmikroskop (Fa. Leitz Diavert Vergrößerung 1o x 6,3) abgelesen.

Für die Virustitrationen in Mikrotitertestplatten wurden 1Ofache Virusverdünnungsreihen in dem jeweiligen Erhaltungsmedium hergestellt. Für jede Virusverdünnungsstufe wurden 8 Näpfchen, die o,o5 ml Erhaltungsmedium enthielten, mit je o,o5 ml der Virusverdünnungen beschickt. Dann wurde o,1 ml einer FHE-Sekundärzellsuspension von $1,7 \times 1o^{5}$ in FHE-Wachstumsmedium ($1,7 \times 1o^{4}$ Zellen pro Napf) bzw. o,1 ml einer Verozellsuspension von $1,o \times 1o^{5}$ Zellen/ ml Verowachstumsmedium ($1,o \times 1o^{4}$ Zellen pro Napf) zugegeben und die Testplatten wurden mit steriler Aluminiumfolie abgedeckt.

Die Inkubation erfolgte für FHE- und Verozellmikrotiterplatten im befeuchteten CO_2-Brutschrank (95 % Luft, 5 % CO_2) für 1o Tage bei 34^{o} C bzw. für 6 Tage bei 37^{o} C. Nach Ablesen des CPE im Plattenmikroskop (Leitz Diavert) bei einer Vergrößerung von 1o x 6,3 wurde in jedes Näpfchen o,o5 ml der o,5 % MEE- bzw. in Vorversuchen Küken-, Huhn- oder Affenerythrozytensuspension gegeben. Nach 2o min. Inkubation bei Raumtemperatur wurde der Platteninhalt durch Umdrehen ausgegossen, der Zellrasen mit PBS ph 7,2 einmal gewaschen und der Hämadsorptionseffekt mikroskopisch abgelesen.

Als Virustiter wurden im Röhrchen- und Plattentest der Kehrwert der initialen Virusverdünnung bewertet, bei dem noch ein

deutlich sichtbarer CPE (von 1-2 + = 25 - 5o %) bzw. eine deutliche Hämadsorption sichtbar war. Die Berechnung des Infektionstiters erfolgte nach Reed und Münch (1938).

3.3.2 Parainfluenzaviren

Die Virustiterbestimmung für die auf Verorouxkolben hergestellten Parainfluenzavirus Typ 2 und 3 Saatviren erfolgte nur auf Mikrotiterplatten in der für Mumpsvirus angegebenen Weise.

3.4 Herstellung der Virusantigene für die serologischen Teste

3.4.1 Mumpsvirus für Neutralisationsteste

Für die Neutralisationsteste auf FHE-Zellen in Röhrchen und Mikrotiterplatten wurden1,7 ml des Mumpswild-Saatvirus (Infektionstiter $10^{6.5}TCID_{50}$/ml) und 3 ml des Mumpsimpf-Saatvirus ($10^{5.0}TCID_{50}$/ml) auf gut ausgewachsene FHE-Rouxkolben ($1o^{7}$Zellen und 6o ml Wachstumsmedium) verimpft. Die Infektionsmultiplizität lag somit bei etwa o,5 bzw. o,o3 $TCID_{50}$ pro Zelle. 24 Stunden später wurde das Wachstumsmedium gegen Erhaltungsmedium ausgewechselt und die Inkubation bei 34^{o} C für 8- 1o Tage bis zur Ausbildung eines gut sichtbaren CPE fortgesetzt. 1 -2 Tage vor der Virusernte erfolgte ein weiterer Mediumwechsel.

Für die Virusernte wurden ca. 3/4 des Zellrasens mechanisch von der Glaswand abgelöst und danach die Zellen aus dem Überstand durch Zentrifugation für 1o min. bei ca. 85o g in der Kühlzentrifuge (Christ, Junior) sedimentiert. Zur Freisetzung des noch zellassoziierten Virus wurde das Zellsediment mit ca. 5 ml Überstand 3 x in Aceton/Trockeneis-Mischung eingefroren und jeweils bei 37^{o} C wieder aufgetaut; die Zelltrümmer wurden durch Zentrifugation für 1o Min. bei 15oo g entfernt. Der Überstand des zellassoziierten Virus (5 ml), der in Vorversuchen einen höheren Infektionstiter ($10^{7.0}TCID_{50}$/ml) als der zellfreie Überstand ($10^{5.4}TJID_{50}$/ml) aufwies, wurde mit 3o ml des letzteren vereinigt und in o,5 ml Portionen bei

-7o° C gelagert. Zur Feststellung des Infektionstiters und Einfluß der Lagerung wurden Virustitrationen in oben beschriebener Weise vor und verschieden lange nach Einfrieren bei -7o° C durchgeführt.

Auf dem Rest des infizierten Zellrasens in dem Rouxkolben wurde das gezüchtete Virus zuerst durch Hämadsorption mit MEE-Suspension und nach Auswaschen der Erythrozyten durch Hämadsorptionshemmung mit ca. 1o Einheiten Anti-Mumps-Meerschweinchen-Immunserum (Microbiological Associates) als Mumpsvirus identifiziert.

Für die Neutralisationsteste auf Verozellen wurden 3 - 4 Tage alte Verozellrouxkolben mit ca. 10^7 Zellen und 6o ml Wachstumsmedium mit 1,7 ml des auf Verozellen gezüchteten Mumpswildvirus ($10^{6.5}$/ml) und 2,7 ml des Mumpsimpfsaatvirus ($10^{6.o}$/ml) beimpft. Dies ergibt eine Infektionsmultiplizität von ca. o,5 bzw. o,3 $TCID_{5o}$/Zelle.

Die Inkubation der Kulturen erfolgte für 6 Tage bei 37° C. Das Medium wurde 1 Tag nach Beimpfung und 1 - 2 Tage vor der Virusernte gewechselt. Das Virus wurde in der für FHE-Zell-Rouxkolben angegebenen Weise geerntet.

3.4.2 Mumpsvirushämagglutinin für den HAH-Test

Für die Gewinnung des HAH-Antigens wurden Verozellrollerflaschen(10^8 bis 10^9Zellen und 150 ml Erhaltungsmedium) mit 1,5 ml des Mumpsimpf-Saatvirus (Infektionstiter $10^{5.o}TCID_{5o}$ per o,o5 ml = $10^{6.3}$/ml) beimpft. Nach 24 Stunden Bebrütung bei 37° C erfolgte ein Mediumwechsel mit 1oo ml Erhaltungsmedium und die Kulturen wurden bei 37° C bis zur Ausbildung eines gut sichtbaren, den ganzen Zellrasen erfassenden CPE für 3-4 Tage fortgesetzt. Danach wurde der Überstand - bis auf 5 ml - abgegossen, die Zellen von der Glaswand abgeschabt, das zellassoziierte Antigen durch dreimaliges Frieren (-2o° C)und Tauen (+ 37° C) freigesetzt und die Zelltrümmer durch Zentrifugation entfernt. Nach vorheriger HA-Titerbestimmung wurde das HA-Antigen bei - 7o° C eingefroren. Der Kulturüberstand wurde verworfen, da er zu wenig hämagglutinierende Einheiten enthielt.

Das Tweenäther-HA-Spaltantigen wurde nach der von Waterson (1963) und Norrby (1962) für die Gewinnung von Masern HA-Spaltantigen beschriebenen Methode hergestellt. Als Ausgangsmaterial diente infiziertes, nicht aufgeschlossenes, in 1o ml Überstand suspendiertes Verozellsediment aus Rouxkolben. Das Mumpsspaltantigen wurde bei +4° C gelagert.

3.4.3 Mumps- und Parainfluenzavirusantigene für den IFl

Als Antigen dienten virusinfizierte Verozellkulturen auf sogenannten Deckglasrechen. Es wurden nach der Methode von Schmitz (197o) je 8 Deckgläschen (7 x 5o mm) auf einen Objektträger (13 x 76 mm) geklebt (Fugendichtung Prakticus^{R} Art. Nr. 72o4), getrocknet, in einer 1:1 Mischung von Diäthyläther und 7o % Äthanol entfettet, in Aqua bidest gespült und in Glaspetrischalen bei 16o° C für 3 Stunden sterilisiert. Die sterilen "Rechen" wurden in einer Plastikpetrischale (Ø 85o mm) mit je 12 ml einer Verozellsuspension von 17o 000/ml Wachstumsmedium überschichtet. Die Zellsuspension wurde kurz vorher mit 1 ml des Mumpsimpf-Saatvirus pro 10^{7} Zellen (Infektionstiter $10^{6.3}TCID_{50}$/ml, Infektionsmultiplizität ca. o,2) bzw. mit 2 ml der Parainfluenzavirustyp 2 und 3 Saatviren (Infektionsmultiplizität ca. o,o2) beimpft. Die Inkubation der Rechen- eckglaskulturen erfolgte im befeuchteten CO_2-Brutschrank bei 37° C. 24 Stunden später wurde das Wachstums- auf Erhaltungsmedium gewechselt. Nach 48 Stunden wurden die Deckglaskulturen bei einem kaum sichtbaren CPE aus der Petrischale entnommen, 3 x in PBS Dulbecco A + B gewaschen und mit entwässertem (durch $CaCl_2$ - Trockensubstanz MERCK) - Behandlung), kaltem (-20° C) Aceton fixiert. Die Lagerung der Deckglasrechen erfolgte in einer Plastikpetrischale in 10%iger Glyzerin (p.a., etwa 87 %, MERCK) PBS-Lösung über Nacht bei 4° C und danach für die Vorratshaltung bei -20° C (Schmitz, 197o). Unter diesen Bedingungen trat kein Antigenschwund ein.
Auf den in den Plastikpetrischalen angewachsenen infizierten Zellrasen wurden die angezüchteten Viren durch HAD mit MEE-Suspension sowie durch Hämadsorptionshemmung mit ca. 1o Einheiten (= 1:2o verdünntem) Anti-Mumps-Immunserum bzw. Anti-

Parainfluenza 2- und 3-Meerschweinchen-Immunseren (WHO Collaborating Centre, Salisbury) als Mumps- bzw. Parainfluenzaviren 2 und 3 bestätigt.

3.5 Durchführung der serologischen Teste

3.5.1 Komplementbindungsreaktion (KBR)

Die KBR wurde im Mikrotitersystem (Greiner:Plastik-Mikrotiterplatten mit U-cups, 24 A. Cooke Eng. Comp.: Automatik-Micro-Diluter mit o,o25 ml Ösen, M 14 Microdiluter Delivery Tester) nach der Kolmertechnik (Kolmer, 1941) mit 2 Antigen -, 2 Komplementeinheiten, Kältelangzeitbindung und Zugabe eines aus gleichen Volumina der in einem Vorversuch bestimmten, 2 Hämolysineinheiten enthaltenden, Ambozeptorgebrauchsverdünnung und der 2%igen Hammelerythrozytensuspension bestehenden hämolytischen Systems (HS) durchgeführt (Lennette und Schmidt, 1969). Nach Zugabe des HS und einer Inkubation des Testes für 3o min. bei 37^{o} C im Brutschrank wurde das Reaktionsgemisch in den Näpfchen der Platten anstelle der üblichen Zentrifugation kurz auf dem Microshaker AM 69 (Cooke) aufgeschüttelt und für weitere 2 Stunden bei 37^{o} C inkubiert. Die Ablesung erfolgte mit Hilfe einer Spiegeleinrichtung.

Als KBR-Titer galt der Kehrwert der initialen Serumverdünnung, bei der keine oder fast keine Hämolyse der Hammelerythrozyten auftrat (75-1oo%ige Endpunktablesung). Die Patienten- und Kontrollseren wurden 1:4 in Veronalpuffer vorverdünnt, 3o min. bei 56^{o} C inaktiviert und in log 2 Stufen ausverdünnt. Folgende Kontrollen wurden in jedem Testansatz durchgeführt:

1) Serumkontrolle in den beiden Anfangsverdünnungsstufen (Antigen durch Puffer ersetzt)
2) Antigendosiskontrolle durch Rücktitration über 4 log 2 Verdünnungsstufen (Serum durch Puffer ersetzt)
3) Komplementdosiskontrolle durch Verdünnungsreihe mit 2.0, 1.5, 1.0 und 0.5 C'-Einheiten (Serum durch Puffer ersetzt).

Außerdem wurden zur Kontrolle der Reproduzierbarkeit der Testergebnisse nach dem Standardprinzip die positiven und

negativen Patientenseren mit bekannten Antikörpertitern sowie gelegentlich weitere Referenzseren mitgeführt.

3.5.2 Der Neutralisationstest (NT)

3.5.2.1 Mikroneutralisationstest (Mikro NT)

Der Mikro-NT wurde in Flachboden-Mikrotiterplatten (Nr. Mm 220-20 Art. steril verpackt, Greiner) durchgeführt. Die Patientenseren wurden in PBS-Dulbecco 1:4 verdünnt, für 30 min. bei 56^{0} C inaktiviert und in je 2 Näpfchen mit Erhaltungsmedium in log 2 Stufen mit 0,05 ml Ösen mit dem automatischen Mikrodiluter von 2^{2} - 2^{10} (1:4 - 1:1024) ausverdünnt. Die Ösen wurden vor und nach jeder Testplatte mit sterilem Aqua bidest gespült und mit sterilen "Microdiluter Deliverytester" auf korrekte Volumenabgabe geprüft.

Zu je 0,05 ml der Serumverdünnung erfolgte die Zugabe von je 0,05 ml der als optimal ermittelten Virustestdosis. Diese war in Erhaltungsmedium hergestellt. Der Testansatz wurde in sterilen Cellophanhüllen für 1 Stunde bei 37^{0} C im CO_2-Brutschrank inkubiert und dann in jedes Näpfchen 0,1 ml der jeweiligen Zellsuspension in Wachstumsmedium getopft. Die Vero- bzw. FHE-Zellsuspensionen enthielten pro 0,1 ml $1x10^{4}$ bzw. $1,7x10^{4}$ Zellen. Zur Sterilhaltung wurden die Platten mit steriler Aluminiumfolie bedeckt und im CO_2-Brutschrank inkubiert. Durch Verschluß mit festsitzender Plastikfolie (Flow) konnte die Inkubation des NT auch im Normalbrutschrank ohne CO_2-Begasung erfolgen. Die Inkubationsdauer betrug für den Mikro-NT mit Verozellen bei 37^{0} C 6 Tage und mit FHE bei 34^{0} C 10 Tage.

In jedem Testansatz wurden Kontrollen der Patientenseren auf Zelltoxizität (1. und 2. Serumverdünnung), der Virustestdosis (Rücktitration in halblogarithmischen Verdünnungsschritten in 8-fachem Ansatz), der Zellkonzentration und der Wachstumstendenz (Rücktitration in 4-fachem Ansatz) durchgeführt. Die Mit-

führung der Referenzseren mit bekannten Antikörpertitern diente der Kontrolle der Reproduzierbarkeit und der Vergleichbarkeit der in den einzelnen Testansätzen erzielten Antikörpertiterergebnissen. Die Ablesung der Mikro-NT-Tests erfolgte, wie unter 3.3 bei den Virusinfektionstiterbestimmungen beschrieben, durch Feststellung des CPE- und HAD-Effektes im Plattenmikroskop. Als Neutralisationstiter wurde der Kehrwert der initialen Serumverdünnung bewertet, bei der CPE und HAD vollständig gehemmt waren. Bei Differenzen zwischen CPE- und HAD-Ablesung wurde der HAD bewertet. Wegen der höheren Empfindlichkeit des letzteren ergaben sich dadurch niedere Serumantikörpertiter als bei Bewertung des CPE.

3.5.2.2 Makroneutralisationstest (Makro NT)

Für die Vor-Versuche wurde auch der Makro NT in Vero- und FHE-Röhrchen durchgeführt. Sie enthielten 0,9 ml des jeweiligen Erhaltungsmediums. Die Virusverdünnungen für die Virustestdosis wurden in Erhaltungsmedium und die Serumverdünnungen in PBS Dulbecco hergestellt. Nach Zugabe von 0,6 ml der Virustestdosis zu je 0,6 ml der Serumverdünnung und Inkubation des Gemisches für 1 Stunde bei 37° C wurden je 2 bis 4 Röhrchen mit 0,1 ml des Virus/Serumgemisches beimpft. Die Virustestdosis wurde durch Rücktitration kontrolliert und ein negatives und positives Referenzserum mit bekannten Antikörpertitern wurde zur Kontrolle der Vergleichbarkeit der in den Patientenseren in den einzelnen Testansätzen erzielten Titerwerte mitgeführt.

Die mikroskopische Ablesung erfolgte für den Vero- bzw. FHE-Makro NT nach 7 bzw. 10-tägiger Inkubation bei 37° C bzw. 34° C. Die Verfahren zur Titerbewertung waren die gleichen wie für Virusinfektionstiterbestimmungen in Röhrchen (3.3).

3.5.3 Hämagglutinationshemmtest (HAH)

Der HAH wurde ebenfalls im Mikrotestsystem in U-Platten mit 0,025 ml-Ösen im Mikrodiluter durchgeführt.

3.5.3.1 Adsorption der Patientenseren

Zur Entfernung unspezifischer Inhibitoren aus Patientenseren wurden diese in Vorversuchen mit Kaolin (Clarke 1958, Buynak 1967), RDE (Burnet 1948, Robbins 1949), mit Heparin-$MnCl_2$ nach Dold und Northrop (1968) und mit K-Perjodat nach Robbins (1949) behandelt.
Für die Kaolinadsorption wurden 0,1 ml Serum mit 0,3 ml 25% säuregewaschener Kaolinaufschwemmung versetzt, 20 min. bei Raumtemperatur inkubiert und für 20 min. bei 2000 g zentrifugiert. Der dekantierte Überstand wurde zur Entfernung von Serumagglutininen für die Indikatorerythrozyten, z.B. Küken, mit 0,05 ml einer 50%igen Hühnererythrozytensuspension versetzt und unter Schütteln 1 Stunde bei 4^{o} C inkubiert.
Nach Zentrifugation für 20 min. bei 8000 g wurde der Überstand dekantiert. Er stellte eine Serumausgangsverdünnung von 1:4 dar.
Die RDE-Behandlung der Patientenseren wurde nach einer vorausgehenden Aktivitätsbestimmung mit dem RDE-Präparat von Behring (Titer 640) nach den Angaben des Beipackzettels durchgeführt. Diese Vorbehandlung ergibt eine Anfangsverdünnung des Serums von 1:10.
Die Methode entspricht den WHO-Empfehlungen zur Entfernung der Mucopolysaccharidinhibitoren für das Influenzahämagglutinin aus Humanseren (1968).
Für die Hauptversuche erfolgte die Serumadsorption mit der Kaolinmethode.

3.5.3.2 Durchführung des HAH

Die vorbehandelten Patientenseren wurden in $\log_2$-Stufen von 2^2 - 2^{10} (1:4 - 1:1024) in DGV-Puffer aus-

verdünnt. In jedes Näpfchen mit 0,025 ml Serumverdünnung erfolgte die Zugabe von 0,025 ml 4 HA-Einheiten enthaltenden Antigens. Diese wurden in einem vorausgehenden Hämagglutinationstest durch Feststellung des HA-Endtiters ermittelt. In den Hauptversuchen wurde als HA-Antigen der Mumps-Impfvirus -Verozellsediment-Extrakt verwendet.

Die Virus/Serumverdünnungen wurden durch Schütteln (Mikroshaker AM 69) gemischt und 1 Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Nach Zugabe von 0,025 ml einer 0,25%igen Kükenerythrozytensuspension und Durchmischung wurde der Test 1 Stunde bei 4^{o} C inkubiert und nach 30 bis 60 min. Stehen bei Raumtemperatur makroskopisch abgelesen. Als HAH-Titer wurde die initiale Serumverdünnung angegeben, die die Hämagglutination vollständig bzw. nahezu vollständig hemmte (75-100%ige Endpunktablesung). Die Tests wurden mit Serum-, Antigeneinheiten - und Erythrozytenkontrollen unter Mitführung negativer und antikörperpositiver Referenzseren mit bekanntem Antikörpergehalt durchgeführt.
In den Vorversuchen wurde der HAH außer mit 0,25 % Kükenerythrozytensuspension auch mit 0,5 % Hühner- und 0,5 % Meerschweinchen (MEE)-Erythrozytensuspension durchgeführt. Außerdem kamen als HA-Antigene auch Tween-Äther-Spaltprodukte aus Mumpsvirus infizierten Verozellsedimenten sowie aus infizierter Allantoisflüssigkeit des Bruteis zur Anwendung.

3.5.4 Indirekter Immunfluoreszenztest (Ifl)

Die fluoreszenzserologische Bestimmung der IgM-und IgG-Serumantikörper erfolgte mit der indirekten Methode nach Schmitz (1970) auf den virusinfizierten Verozellrechen.

Die zum Teil länger bei 4^{o} C oder -20^{o} C gelagerten Serumproben wurden durch Zentrifugation bei 8000 g gereinigt und geometrische Verdünnungsreihen mit PBS-Dulbecco von 2^{2} - 2^{10}

in Mikrotiter U-Platten hergestellt. Die bei -20° C gelagerten Antigenrechen wurden nach Auftauen 3 x in PBS gewaschen und leicht mit Filterpapier abgetrocknet. Zur Verhinderung des Herunterfließens der Serumverdünnungen an den Verbindungsstellen von Deckgläschen mit Objektträgern wurde Nagellack aufgetragen. Außerdem konnten die einzelnen Deckgläschen durch Nagellackstriche noch einmal unterteilt werden, so daß nun anstelle 16, 32 kleine Felder zur Verfügung standen.

Die Serumverdünnungen wurden in 0,05 bzw. 0,025 ml Volumen entweder in zweifachen oder vierfachen Verdünnungsreihen aufgetragen und die Rechen in einer feuchten Kammer bei 37° C inkubiert. Danach wurden die Deckgläschen einzeln mit Puffer abgespült und die Rechen für 45 min. in viel PBS auf dem Magnetrührer zur Entfernung überschüssigen Serums gründlich gewaschen. Dann wurden die Deckgläschen mit je 0,05 ml des fluoreszeinmarkierten Ziege-Antihumanglobulin (Hyland) überschichtet, für 3o min. bei 37° C in einer feuchten Kammer inkubiert und anschließend für 30 min. gründlich in PBS gewaschen. Zum Ablesen wurden die Deckglasrechen mit der bewachsenen Seite nach unten auf ein Gestell (Matrize) aus 2 verbundenen Objektträgern aufgelegt. Die Ablesung erfolgte im Immunfluoreszenz-Mikroskop Standard der Firma Zeiss mit Neofluar Objektiv 25, Okular 10 und folgender Filterkombination: Interferenzfilter: Erregerfilter KP 490, Sperrfilter: Kantenfilter K 510, Selektionsfilter S 525, Farbglasfilter BG 38.

Die Kriterien für die Ablesung bestanden in grünlich fluoreszierenden scholligen bzw. rundlichen Cytoplasmaeinschlüssen. Für die Mumpsviren waren die großscholligen und für die Parainfluenzaviren die kleineren rundlichen und feinkörnigen Cytoplasmaeinschlüsse charakteristisch.

Die Ablesung erfolgte blind mit einem Nummern-Protokoll und für mehrere Testansätze noch durch einen zweiten Untersucher.

Nach Abschwemmen der Deckglasrechen vom Objektträgergestell durch Einlegen in eine große Petrischale mit PBS-Dulbecco

und Aufbewahrung bei 4° C im Dunkeln konnte die Ablesung noch bis zu 2 Tage mit gleichem Ergebnis wiederholt werden.
Als Antikörpertiter wurde der Kehrwert derjenigen Serumverdünnung bewertet, die noch spezifisch fluoreszierende Einschlüsse erkennen ließ.

3.5.4.1 Spezifische IgG- und IgM-Antikörperteste

Für die IgG-Antikörpertiterbestimmung wurden die Serumverdünnungen von 1:4 - 1:512 in vierfachen, bei Wiederholung auch in zweifachen, Verdünnungsstufen aufgetragen und die Inkubation für 45 min. bei 37° C durchgeführt. Als fluoreszeinmarkiertes Antiserum wurde das Goat Antiserum to Human IgG (H- and L-chain specific), fluorescein-conjugated (Hyland), lyophilisiert (aufgelöst in beigefügtem Lösungsmittel bei 4° C gelagert), verwendet. Die optimale Konjugatverdünnung für die jeweilige Charge wurde in Vorversuchen ermittelt.

Für die IgM-Antikörpertiterbestimmung begannen die Serumverdünnungen bei 1:8 und die Seruminkubation wurde länger, d.h. für 3 Stunden bei 37° C durchgeführt, da die größeren Immunglobuline M weniger gut in die fixierte Zelle eindringen als die Immunglobuline G.
Die Anfärbung erfolgte mit Goat-Antiserum to Human IgM (μ-chain-specific), fluorescein-conjugated (Hyland), lyophilisiert (aufgelöst in beigefügtem Lösungsmittel bei 4° C gelagert).
Prinzipiell wurden zusammengehörige Seren, bzw. Serumpaare im gleichen Testansatz untersucht. Bei Serienuntersuchungen wurde das letzte untersuchte Serum noch einmal mit dem neu eingetroffenen im gleichen Testansatz mitgeführt.
In jedem Testansatz wurde die Spezifität der Immunfluoreszenz und der Antikörperbefunde durch eine

Pufferkontrolle anstelle Serumverdünnung und durch ein antikörpernegatives Humanserum in Verdünnung 1:4 bzw. 1:8 für den IgG- und IgM-Test geprüft. Die Spezifität der IgM-Testergebnisse wurde zusätzlich noch durch einen Humanserumpool mit hohem IgG-Titer (2^7) bei fehlenden IgM-Antikörpern kontrolliert. Für die Vergleichbarkeit der Antikörpertiter in den einzelnen Testansätzen erfolgte die Austitration positiver Human-Referenzserumpools mit bekannten IgG- und IgM-Antikörpertitern.

Zur Spezifitätskontrolle des jeweiligen Antigens wurden das Anti-Mumps bzw. Anti-Parainfluenzavirus 2 und 3 Referenzserum vom Meerschweinchen (WHO Collaborating Centre, Salisbury) mitgeführt. In diesem Fall erfolgte die Färbung des Präparates mit FITC konjugiertem Antiserum gegen Meerschweinchenimmunglobulin (Anti-Guineapig Immunglobulin (rabbit) fluorescein labelled, Wellcome).

3.5.5 Hemolysis in Gel-Test (HIG)

Der HIG für Mumps wurde in Orivir Geltestplatten (von Orion Diagnostica freundlicherweise zur Verfügung gestellt, Aufbewahrung bis zur Versuchsdurchführung bei 4° C nicht länger als 5 Tage) mit einer 5 µl-Hamilton-Spritze (Micromesure N.V.) durchgeführt. In jedes der 12 ausgestanzten Löcher (Ø 3 mm) der quadratischen Platten wurden 0,005 ml der unverdünnten für 3o min. bei 56° C inaktivierten Seren eingefüllt. Die Spritze wurde vor jedem neuen Serum durch wiederholtes Aufziehen von 0,85 % NaCl-Lösung von Serumresten des vorhergehenden Serums befreit und anschließend 3 x mit dem aufzutragenden Serum durchgespült, das dabei verworfen wurde. Die Testseren wurden sehr sorgfältig in die Löcher eingefüllt, da Risse im Gel ihr konzentrisches Diffundieren verhindern. Nach 2Ostündiger Inkubation der festverschlossenen Agargelplatten bei 37° C auf einer austarierten Unterlage wurde die sich konzentrisch ausbreitende Hämolysere-

aktion durch Veränderung der Inkubationstemperatur auf $+4^{\circ}$ C gestoppt.
Der Durchmesser des Hämolysehofes wurde mit einer Meßlupe (Bausch und Lomb) bei 7facher Vergrößerung abgelesen.
Einige Testplatten wurden nach 24stündiger Lagerung bei 4° C zum zweiten Mal abgelesen, wobei gezeigt werden konnte, daß auch dieser Ablesemodus ohne Verfälschung der Ergebnisse bei Zeitmangel möglich ist.
Als Kontrollseren wurden bei jedem der 3 Testansätze die Referenzserumpools, sowie ein Mumpsimmunglobulin vom Menschen (Behring) mitgeführt.

3.5.6 Enzyme linked immunosorbent (oder immunospecific) assay (ELISA) (Avrameas, 1969; Engvall, 1971)

Der ELISA für die Mumpsantikörper wurde nach Vorversuchen mit verschiedenen Antigenen (KBR-Mumps-Antigen Behring, KBR-Mumps-Antigen St. Gallen, HA-Mumpsantigen eigene Herstellung) in der Virusabteilung von Ziegelmeier und Mitarb. (Behringwerke 1978) gebrauchsfähig gemacht. Der Mumps-ELISA wird nach den gleichen Prinzipien durchgeführt, wie der für den Nachweis von CMV (Schmitz, im Druck).

Die Bestimmungen der Mumps-IgM- und IgG-Antikörper im ELISA erfolgten durch Ziegelmeier und Mitarb. (Behringwerke) in unseren an ihn übersandten Seren im Blindversuch.

4. VERSUCHE ZUR OPTIMIERUNG DER SEROLOGISCHEN METHODEN

Von den verschiedenen serologischen Verfahren, die für bestimmte diagnostische Fragestellungen zum Einsatz kommen, wird folgendes erwartet:
Sie müssen einerseits ungefährlich für das Laborpersonal, spezifisch, empfindlich und schnell sein und andererseits einen möglichst geringen Arbeitsaufwand und Kosten verursachen.

4.1. Antigenherstellung und Infektionstiterbestimmung

Aus diesen Gründen haben wir zunächst geprüft, ob 1.) für die Herstellung eines potenten Antigens das attenuierte Impfvirus ebenso gut geeignet ist wie das Wildvirus; 2.) die im Labor leicht verfügbaren permanenten Verozellen in Bezug auf die Antigenproduktion und Infektionstiter bzw. Antikörperbestimmung ebenso gute Ergebnisse liefern wie die bisher angewendeten, für jeden Test neu herzustellenden primären Hühnerembryofibroblastenkulturen, und 3.) sich mit dem einfach zu handhabenden Mikrotitersystem gleichwertige Ergebnisse erzielen lassen wie mit der zeitaufwendigen Röhrchentechnik.
Zu diesem Zwecke wurden mit dem Mumpswild- und Impfvirusstamm auf FHE- bzw. Verozellkulturen Infektionstitrationen sowohl in Röhrchen als auch in Mikrotiterplatten durchgeführt. Es wurden pro Virusverdünnungsstufe je 5 Kulturröhrchen bzw. 8 Näpfchen beimpft. Für die Beurteilung der Eignung wurde Titerhöhe, Ablesbarkeit der Ergebnisse und Testdauer berücksichtigt. In Tahelle1 sind die Ergebnisse zusammengestellt. Es ist ersichtlich, daß das Wildvirus gegenüber dem Impfvirus unter allen Bedingungen und der Röhrchen-gegenüber dem Mikrotest insignifikant höhere Titer ($10^{\pm o,3}$) ergab. Für das Impfvirus waren bei Berechnung gleicher Volumina die Infektionstiter auf FHE-Zellen jedoch deutlich ($10^{\pm 1,4}$) niedriger als auf Verozellen.

In Bezug auf Ablesbarkeit konnte der CPE auf Verozellen bei kürzerer Testdauer(6 Tage) besser erkannt werden als auf FHE-Zellen (Testdauer 10 Tage), während der HAD in gleicher Weise ausgeprägt war. Für die Durchführung der Hämadsorption wurden Erythrozyten drei verschiedener Tierspezies (MEE in 0,5 % -, Küken in 0,25 % -,

bzw. Huhn in 0,5 % - und Affe (Cercopithecus aethiops) in 0,5 % Suspension) auf Spezifität und Intensität des HAD in beimpften und nicht beimpften Zellkulturen in Röhrchen und Mikrotiterplatten überprüft.

Für die Suspensionen, die aus 1 bis 6 Tage in Alsever gelagerten Erythrozyten nach 3x Waschen in PBS pH7,2 hergestellt worden waren, ergab sich eine gleiche, gute Spezifität und Intensität des HAD. Bei Verwendung älterer Erythrozyten (z.B. MEE älter als 6 Tage) für die 0,5 % Suspension kam es dagegen auf den unbeimpften Zellkulturrasen in Mikrotiterplatten zu einer unspezifischen Hämadsorption.

4.2 NT

Für die Feststellung natürlicher und durch Impfung erworbener Antikörper im Neutralisationstest erfolgten Vorversuche im Hinblick auf Eignung des Virusantigens, der Zellart, des Kultursystems und der optimalen Virustestdosis. Hierzu wurden die Neutralisationstiter in je einem Rekonvaleszenten- und einem postvakzinalen Impfserum sowie in dem Human-Immunglobulin der Behringwerke mit Mumpswild- und Impfvirus als Antigen, in Vero- und FHE-Zellkulturen sowohl im Röhrchen- als auch im Mikrotitertest bestimmt.Es zeigte sich, daß prinzipiell mit dem Mumpswild- und Impfstamm bei gleicher Testdosis auf demselben Kultursystem die verschiedenartig erworbenen Antikörper in gleicher Höhe nachgewiesen werden können. Dementsprechend verwendeten wir für die weiteren Neutralisationsteste nur noch den ungefährlichen Mumpsimpfvirusstamm als Antigen. Wie aus der Aufstellung ersichtlich, waren jedoch auf den primären FHE-Zellkulturen sowohl im Röhrchen- als auch im Mikrotitertest die Neutralisationstiter um 1 bis 2 Stufen höher als auf Verozellkulturen.

Zellart	Rekonvaleszentenserum		Serum nach Mumpsimpfung		Immunglobulin	
	Makro	Mikro	Makro	Mikro	Makro	Mikro
FHE	2^4	2^6	2^4	2^4	2^{10}	2^{10}
Vero	2^3	2^4	2^3	2^3	2^9	2^9

Tabelle 1

Vergleich der Titerhöhen und Ablesbarkeit (CPE und HAD) der Mumpswild- und Impfvirusstämme auf -FHE- und Vero-Zellen sowie in Glaskulturröhrchen und Plastikmikrotiterplatten

Zellart	Kultur-system	Zellqualität (Beginn bis Ende der Testdauer)	Testdauer	Bebrütungs-temperatur	Wildvirus geometrischer mittlerer Titer	Impfvirus geometrischer mittlerer Titer	Titerbewertung CPE Ablesbarkeit	Titerbewertung HAD
Vero-Zellen	Mikrotiter-Plastik-Platten	+	7 Tage	37° C	$10^{5,3}$	$10^{5,1}$ (per o,o5 ml)	+	+
	Glas-Röhrchen	±	7 Tage	37° C	$10^{5,7}$	$10^{5,4}$ (per 0,1 ml)	+	+
FHE-Zellen	Mikrotiter-Plastik-Platten	+	10 Tage	34° C	$10^{5,1}$	$10^{3,7}$ (per 0,05 ml)	±	+
	Glas-Röhrchen	±	10 Tage	34° C	$10^{5,7}$	$10^{4,0}$ (per 0,1 ml)	±	+

+ = gut

± = unbefriedigend

Bei der Durchführung der Neutralisationsteste fiel auf, daß in Mikrotiterplatten, nicht aber in Röhrchen die niedrigen Serumverdünnungen, besonders von länger bei 4^{o} C gelagerten oder häufig aufgetauten und bei -20^{o} C wieder eingefrorenen Patientenseren, zytotoxische Effekte verursachten. Dadurch wurde die Ablesbarkeit der niederen Titerbereiche erschwert.
Wir versuchten deshalb, die zytotoxische Aktivität durch Vorbehandlung der Seren mit acetonfixierten Vero- oder FHE-Zellextrakten zu entfernen. Zu diesem Zwecke wurden 1,o ml der Serumverdünnungen (1:4) mit 0,1 ml acetonfixiertem Zellsediment eines Rouxkolbens versetzt, 14 Stunden bei 4^{o} C inkubiert, und das Zellsediment durch Zentrifugation für 1o min. bei 2ooo g aus der Serumverdünnung entfernt.
Mit dieser Methode gelang die Elim nierung der zytotoxischen Aktivität jedoch nicht.
Die Auswirkungen der zytotoxischen Aktivität ließen sich jedoch vermindern, wenn wir die NTs im Mikrotitersystem auf ausgewachsenen Zellrasen - entsprechend dem Röhrchentest - , statt durch Zugabe der Zellsuspension auf das vorinkubierte Virus-Serum-Gemisch, durchführten.
Die größere Umständlichkeit dieses Vorgehens, ebenso wie beim Röhrchentest, entsprach jedoch nicht unseren Vorstellungen einer möglichst einfach zu handhabenden Methode für Massenuntersuchungen bzw. für den Einsatz in der Routinediagnostik.
Unter diesem Gesichtspunkt entschieden wir uns auch für die Verwendung permanenter Verozellen anstelle von Hühnerembryofibroblastenkulturen, obwohl mit den letzteren um 1 Stufe höhere Neutralisationstiter erzielt worden waren.

Für den Neutralisationstest mit dem Impfvirus im Verozellmikrotitersystem wurden dann mit 5 verschiedenartigen Serumproben die optimale Virustestdosis sowie Inkubationsdauer für das Virus-Serum-Gemisch ermittelt. - Unter optimaler Virustestdosis versteht man diejenige Viruskonzentration, mit der unter den gewählten Testbedingungen bei Fehlen von Antikörpern im negativen Serum alle Kulturen infiziert sind, und bei Gegenwart von Antikörpern in den positiven Seren die höchstmöglichen Titer erzielt werden. In 2 Ansätzen wurden die jeweiligen Serumverdün-

nungsreihen mit 10 - 32 - 100 - 320 - 1000 $TCID_{50}$ des Impfvirus versetzt und je 1 Testansatz kurz (für 1 Stunde bei 37° C) bzw. lang (über Nacht bei 4° C und anschließend 1 Stunde bei 37° C) inkubiert.

Aus der Tabelle 2 ist ersichtlich, daß das negative Patientenserum mit der geringen Testdosis von 10 $TCID_{50}$ falsch positive Titer von >16 ergab, während mit den höheren Testdosen von 32 und mehr kein Antikörpertiter gefunden wurde. In den Rekonvaleszentenseren und im Humanimmunglobulin wurden mit 32 $TCID_{50}$ die höchsten NT-Titer erzielt. Mit 100 $TCID_{50}$ sanken die Titerwerte nur geringfügig, jedoch mit 320-1000 ID_{50} etwa um die Hälfte ab. Die Langzeitinkubation bewirkte im Vergleich zur Kurzinkubation nur bei dem hochtitrigen Mumpsimmunglobulin, nicht aber bei dem Rekonvaleszentenserum I oder dem Röteln-Immunglobulin mit mittleren Mumpsantikörpertitern eine zusätzliche Titersteigerung. Dementsprechend entschlossen wir uns für die Hauptversuche zur Anwendung einer Testdosis von 32 $TCID_{50}$ und der technisch einfacheren und zeitsparenden Kurzinkubation.

4.3 HAH

Von praktischer Bedeutung für die Empfindlichkeit und Spezifität des HAH sind Art und Konzentration des Testantigens, Erythrozytenspezies und Konzentration der Suspension, und die Entfernung der unspezifischen Inhibitoren aus den Patientenseren ohne Reduktion der spezifischen Antikörper.

Für die 4 verschiedenen HA-Antigene wurden die HA-Titer mit 0,25 % Küken- und 0,5 % MEE-Erythrozyten-Suspension, sowie die Lagerfähigkeit der HA-Antigene und ihre Empfindlichkeit für den Antikörpernachweis bestimmt.

Für das HA-Vero- und Allantoisvollantigen wurden HA-Titer von 64 bzw. 32 erzielt. Mit dem Tweenätherspaltprodukt des Verozell- bzw. Allantoisantigens lagen die Titerwerte um eine (128) bzw. um zwei bis vier Titerstufen (256, 512) höher. Die Titer waren mit beiden Erythrozytenarten gleich hoch. Die HA-Teste mit Kükenerythrozyten konnten jedoch durch ihre schnellere Sedimentation besser und früher abgelesen werden, als die mit Meerschweinchenerythrozyten.

Tabelle 2: Einfluß der Virustestdosis und der Inkubationsdauer des Virus-Serum-Gemisches auf die mittleren Neutralisationstiter (im Mikrotestsystem)

Patientenseren	Inkubationsmodus	mittlere Neutralisationstiter* Testdosis ($TCID_{50}$)				
		10	32	100	320	1000
Negatives Patientenserum	1 h 37° C / 12 h 4° C + 1 h 37° C	>16 / -	<4 / 4	<4 / <4	<4 / <4	<4 / <4
Rekonvaleszentenserum I	1 h 37° C / 12 h 4° C + 1 h 37° C	64 / -	53 / 53	45 / 53	37 / 37	23 / 37
Rekonvaleszentenserum II	1 h 37° C / 12 h 4° C + 1 h 37° C	128 / -	128 / -	64 / -	64 / -	32 / -
Human Mumps-Immunglobulin	1 h 37° C / 12 h 4° C + 1 h 37° C	- / -	708 / 1536	617 / 776	362 / 724	362 / 512
Human-Röteln-Immunglobulin	1 h 37° C / 12 h 4° C + 1 h 37° C	- / -	98 / 107	91 / 98	49 / 39	45 / 45

* aus zwei Testen

Die Überprüfung der HA-Titer 2 Wochen, 1 Monat und 6 Monate nach Lagerung ergab für das HA-Verovollantigen (-70° C) reproduzierbare HA-Titer von 128. Dagegen waren die HA-Titer des Allantoisvollantigens (4° C) und der beiden Spaltprodukte (4° C) innerhalb von 2 Wochen bis 1 Monat um 3 bis 5 Titerstufen abgesunken und auch von Test zu Test nicht reproduzierbar.
Die Empfindlichkeit der HA-Antigene zum Nachweis von Antikörpern wurde mit den frisch hergestellten Antigenpräparaten, 2 positiven Rekonvaleszenten- und 2 negativen Humanseren mit Kükenerythrozytensuspension in fünffachem Ansatz geprüft.
Mit den Spaltantigenen wurden aufgrund der feineren Dispersion der HA-Teilchen zwar um 1 bis 2 Stufen höhere HAH-Titer gemessen als mit den Vollantigenen, jedoch waren die Seren ohne Antikörper nicht einwandfrei negativ.

Unter den gegebenen Voraussetzungen verwendeten wir für den HAH-Test das bei -70°C stabile HAH-Verozellvollantigen und als Indikatorsystem eine in DGV-Puffer hergestellte 0,25% Kükenerythrozytensuspension.

Für die Ermittlung der am besten geeigneten Methode zur Entfernung der unspezifischen Inhibitoren aus Patientenseren wurde die Wirkung von Kaolin, RDE, Heparin-$MnCl_2$ und K-Perjodat verglichen. Hierzu wurden je 2 antikörperpositive und-negative Patientenseren, sowie das Humanglobulin entsprechend (wie beschrieben bzw. nach Bonin, 1973) vorbehandelt. Die HAH-Teste wurden mit nicht vorbehandelten und vorbehandelten Seren unter Verwendung des HA-Verozellvollantigens und 0,25 % Kükenerythrozytensuspension durchgeführt.
Wir stellten fest, daß nur die Kaolin- und RDE-Vorbehandlung die Inhibitoren vollständig aus den negativen Patientenseren (<4 bzw. <10) ohne Reduktion der Antikörpertiter in den positiven Seren und im Mumpsimmunglobulin entfernte. Ohne Vorbehandlung wiesen die negativen Seren einen Titer von 16, mit der Heparin-$MnCl_2$- und Perjodat-Methode Titer von 8 bzw. 16 auf. Die Titer in den Rekonvaleszentenseren und im Mumpsimmunglobulin betrugen ohne und mit Vorbehandlung 32 und 40, bzw. 512 und 640. Die HAH-teste konnten mit den Kaolin-vorbehandelten Seren besser abgele-

sen werden als mit den RDE-vorbehandelten Seren. Außerdem ist es möglich, bei Kaolin-Vorbehandlung (initiale Serumverdünnung 1:4) niedrigere Titerwerte zu erfassen als bei RDE-Vorbehandlung (initiale Serumverdünnung 1:10).
Aus diesen Gründen wurde die Kaolin-Vorbehandlung der Patientenseren für den HAH gewählt.

4.4 IF1

Das Hauptproblem bei der indirekten Immunfluoreszenztechnik ist die Vermeidung unspezifischer Färbungen, insbesondere bei der Bestimmung von IgM-Antikörpern. Unter Verwendung anerkannt reiner Fluoreszenzkonjugate und erprobter Fixierungsverfahren erwies sich als wichtigster Faktor für die Spezifitätssicherung die Herstellungsart des Antigens und die Inkubationsdauer bis zur Fixierung.

Anfänglich wurden mit Mumpsimpfvirus infizierte Verozellen bei einem gerade erkennbaren CPE von Roux-Kolben auf die Trägerrechen umgesetzt und diese nach weiterer Inkubation für ca. 3 Tage bei einem fast vollständig ausgebildeten CPE (75 - 100 %) fixiert. Später erfolgte auf Vorschlag von Luthardt (persönliche Mitteilung, 1977) die Infektion der Verozellsuspension kurz vor Aussaat auf die Träger"rechen" und die Fixation 48 Stunden später bei einem kaum erkennbaren CPE.
Die beiden Herstellungsmethoden für das Antigen wurden für IgM- und IgG-Antikörpernachweis in 5 Versuchsansätzen mit Patienten-, Referenzseren und den beschriebenen Spezifitätskontrollen verglichen.

Wir stellten fest, daß mit der 2. Methode die Spezifität und damit auch die Empfindlichkeit des IgM-Antikörpernachweises für geringere Konzentrationen gegenüber der 1. Methode wesentlich höher war. Für die IgG-Antikörperbestimmung waren beide Antigenherstellungsarten in gleicher Weise geeignet.
Für die weiteren serologischen Untersuchungen im IF1 wurde das nach der 2. Methode hergestellte Antigen verwendet.

5. ERGEBNISSE

5.1 Antikörperentwicklung und Persistenz nach natürlicher, frischer Mumpsinfektion

5.1.1 Patientenkollektiv

Die serologischen Untersuchungen wurden an Seren von 211 männlichen und weiblichen Patienten im Alter von 1 bis 55 Jahren mit frischer oder kürzlicher Mumpserkrankung durchgeführt. Die Diagnose Mumps war durch einen mindestens 4fachen Titeranstieg in der KBR oder Nachweis von IgM-Antikörpern gesichert. Bei 42 Patienten wurde sie außerdem durch eine Virusisolierung aus Liquor, Rachenspülwasser bzw. Urin bestätigt.

Tabelle 3 gibt einen Überblick über das Patientenkollektiv, die Krankheitsbilder, die Geschlechts- und Altersverteilung und in Abb. 1 ist die Häufigkeit der Krankheitsbilder in den verschiedenen Altersgruppen dargestellt. Von den 211 Patienten hatten 14,7 % Parotitis, 46,4 % Meningitis, 17,2 % Parotitis mit Meningitis, 5,7 % Meningo-Enzephalitis, 2,8 % Enzephalitis, 1o,4 % Parotitis-Pankreatitis-Orchitis, 1,4 % Meningitis-Orchitis und 1,4 % ungewöhnliche Erkrankungskonstellationen.

Der Anteil der weiblichen und männlichen Patienten an unserem Kollektiv beträgt insgesamt 28 % (n= 59) bzw. 72 % (n= 152).

Die Häufigkeit der verschiedenen Krankheitsbilder gibt kein repräsentatives Bild über das Auftreten dieser Symptome, denn es wurden uns vorwiegend Seren von Patienten mit Komplikationen, besonders zentralnervöser Art, eingesandt. Alle Kleinkinder bis zum 3. Lebensjahr hatten ZNS-Komplikationen. Auch bei den 4-6jährigen, die den größten Anteil unserer Mumpspatienten stellten, überwogen die ZNS-Komplikationen. Mit steigendem Lebensalter nimmt die Zahl der uns zur Verfügung stehenden Seren ab. Die relativ hohe Zahl der Mumpspatienten über 2o Jahre ist im Zusammenhang damit zu sehen, daß von den Ärzten hauptsächlich außergewöhnliche Erkrankungskonstellationen, z.B. eine Kinderkrankheit im Erwachsenenalter sowie Orchitis, für eine virusserologische Diagnostik vorgesehen werden.

Tabelle 3

Übersicht über das Patientengut der Antikörper-Verlaufsstudie (211 Patienten)

Symptomatik	Zahl	(%)	Alter von - bis	Durchschnittsalter
1.) Parotitis [a]	♀ 16 ♂ 15	51,6 48,4	4 - 55 Jahre	6,4 ± 2,9 Jahre ($\bar{n}$ = 21)
2.) Meningitis (Parotitis) [a]	♀ 24 ♂ 74	24,5 75,5	1 - 31 Jahre	6,2 ± 2,6 Jahre ($\bar{n}$ = 96)
3.) Parotitis/Meningitis [a]	♀ 13 ♂ 23	36,1 63,9	2 - 37 Jahre	6,5 ± 2,9 Jahre ($\bar{n}$ = 32)
4.) Meningo-Enzephalitis + Sinusitis + Hörschäden [a]	♀ 1 ♂ 11	8,3 91,7	1 - 12 Jahre	4,7 ± 2,8 Jahre ($\bar{n}$ = 12)
5.) Enzephalitis [a]	♀ - ♂ 6	- 100	1 - 9 Jahre	5,6 ± 3,9 Jahre ($\bar{n}$ = 6)
6.) Parotitis/Pankreatitis Orchitis/Adenitis (Myocard. 2 Fälle)	♀ 4 ♂ 18	18,2 81,8	5 - 44 Jahre	18,9 ± 12,9 Jahre ($\bar{n}$ = 22)
7.) Meningitis/Pankreatitis Parotitis/Orchitis	♀ 1 ♂ 2	33,3 66,7	9 - 38 Jahre	18,7 ± 16,7 Jahre ($\bar{n}$ = 3)
8.) Besonderheiten Paresen, maligne Tumore chron. Parotitis	♀ - ♂ 3	- 100	3 - 22 Jahre	9,5 ± 8,7 Jahre ($\bar{n}$ = 3)

a) Zur Errechnung des Durchschnittsalters wurden nur Patienten < 20 Jahre herangezogen.

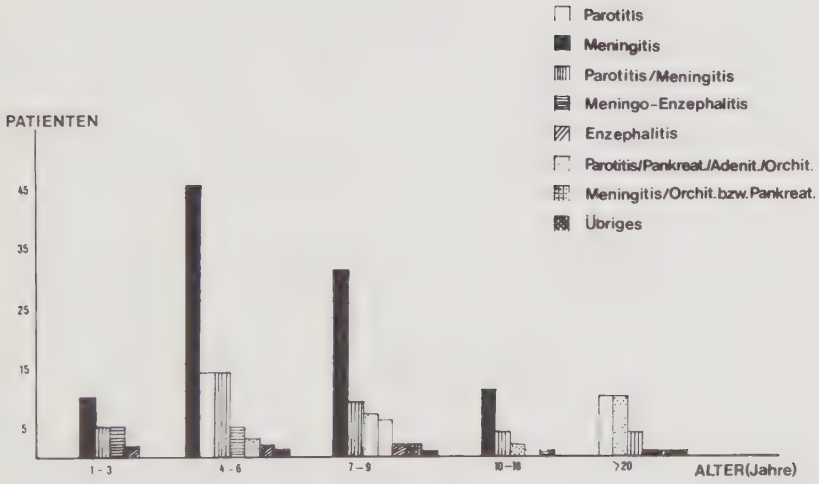


Abb. 1
Häufigkeit der Krankheitsbilder in den verschiedenen Altersgruppen (211 Patienten)

Mit den Seren dieser Patienten wurde die Antikörperentwicklung in der KBR, im NT, sowie im HAH, und an einer repräsentativen Zahl dieser Seren auch im IF1, HIG und ELISA untersucht. Aus technischen Gründen wie Serummangel, antikomplementäre oder zytotoxische Aktivität für die KBR bzw. den NT standen nicht immer alle Seren mit gleichen Entnahmezeitpunkten für die Bewertung sämtlicher Testarten zur Verfügung.

Die folgende Aufstellung gibt Auskunft über die Zahl der Patienten und Serumproben, für die Antikörper in den einzelnen Testarten bestimmt wurden.

Testart	Zahl d. Patienten	Zahl d. Serumproben
NT		492
HAH	± 211	5o9
KBR(Misch-Ag)		54o
KBR (S- u.V-Ag)	46	76
IF1	58	132
HIG	32	86
ELISA	33	52

Bei Bezug der Antikörperentwicklung auf den Krankheitsbeginn muß berücksichtigt werden, daß bei den Angaben der Einsender, besonders bei Mumpskomplikationen, nicht immer klar hervorging, ob es sich dabei um Beginn der ersten Mumpssymptome oder der Komplikationen handelte.

5.1.2 Antikörperentwicklung und Titerverlauf

In der Tabelle 4 sind die KBR-, NT- und HAH-Antikörpertiterbefunde 1 Tag bis 3 Jahre nach Krankheitsbeginn zusammengefaßt und in den Abbildungen 2 und 3 graphisch dargestellt. Als antikörperpositiv für die KBR gelten Titerwerte von 8 und mehr und für den NT und HAH von 4 und mehr. Für die KBR waren die niedersten Serumverdünnungen vorwiegend 1:4. Da aber manche dieser Seren wegen geringer Serummengen bzw. wegen antikomplementärer Aktivitäten erst ab Serumverdünnungen von 1:8 getestet werden konnten,

Tabelle4 : Antikörperentwicklung nach natürlicher Mumpsinfektion in KBR, NT und HAH

Zeit nach Erkrankungs-beginn	KBR			NT			HAH		
	pos./getest.	% pos.	GMT	pos./getest.	% pos.	GMT	pos./getest.	% pos.	GMT
± 1 Tag	19/36	52,7	$2^{3,6\pm0,9}$	15/33	45,4	$2^{2,5\pm1,2}$	11/33	33,3	$2^{3,0\pm1,55}$
± 3 Tage	74/95	77,9	$2^{4,3\pm1,4}$	33/57	57,9	$2^{3,0\pm1,3}$	44/59	74,6	$2^{3,2\pm1,3}$
± 7 Tage	27/32	84,4	$2^{4,9\pm1,3}$	47/66	71,2	$2^{3,7\pm1,6}$	54/72	75	$2^{4,0\pm1,7}$
± 9 Tage	29	100	$2^{5,5\pm1,2}$	25/27	92,6	$2^{5,0\pm1,1}$	28/31	90,3	$2^{5,2\pm1,2}$
±15 Tage	144	100	$2^{5,8\pm1,1}$	115	100	$2^{5,6\pm1,4}$	121	100	$2^{5,8\pm1,5}$
±25 Tage	67	100	$2^{5,7\pm1,1}$	65	100	$2^{5,7\pm1,2}$	65	100	$2^{5,8\pm1,1}$
>1-6 Monate	46	100	$2^{5,6\pm1,5}$	62	100	$2^{5,5\pm1,3}$	63	100	$2^{5,7\pm1,2}$
>6 Monate - 1 Jahr	47/53	88,7	$2^{3,8\pm1,0}$	32	100	$2^{4,8\pm1,3}$	32	100	$2^{5,0\pm1,3}$
>1-3 Jahre	30/38	79	$2^{3,6\pm1,2}$	35	100	$2^{4,9\pm1,3}$	33	100	$2^{4,8\pm1,1}$

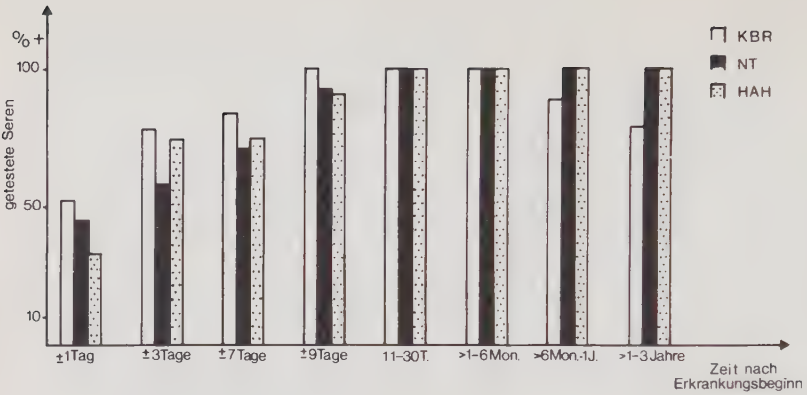


Abb. 2

Antikörperstatus von 211 Patienten in KBR, NT und HAH verschieden lange nach frischer Mumpserkrankung

Niederste Serumverdünnung: KBR 1:8, NT 1:4, HAH 1:4

Abb. 3

Antikörpertiter von 211 Patienten in KBR, NT und HAH verschieden lange nach frischer Mumpserkrankung

Niederste Serumverdünnung: KBR 1:8, NT 1:4, HAH 1:4

wurden bei der Auswertung alle Seren mit einem AK-Titer < 8 als negativ bewertet.
Am 1. und 2. Tag nach Krankheitsbeginn wiesen 53 % der Seren schon KBR-Antikörper, dagegen nur 45 % NT- bzw. 33 % HAH-Antikörper auf. Diese Differenzen im Antikörperstatus waren zufällig. Nach ca. 3 Tagen waren in der KBR (78 %) und im HAH (75 %) signifikant mehr Seren positiv ($x^2 = 6,77$; $p = 0,01$; $df = 1$) als im NT (58 %), während 7 und 9 Tage nach Krankheitsbeginn die unterschiedliche Häufigkeit von KBR (84 % bzw. 100 %)-, NT (71 % bzw. 93 %)- und HAH (75 % bzw. 90 %)-Antikörpern nicht signifikant war.

9 Tage nach Krankheitsbeginn besaßen alle Patienten, denen zu diesem Zeitpunkt Blut entnommen worden war, meßbare KBR-Antikörper. Diese konnten bis 6 Monate nach der Mumpserkrankung in allen Seren nachgewiesen werden.
Zwischen 6 Monaten bis 1 Jahr fiel der Prozentsatz der Seropositiven auf 89 % und zwischen 1 bis 3 Jahre auf 79 % ab.

Die Entwicklung der NT-Antikörper verlief langsamer. Einen und drei Tage nach Erkrankungsbeginn waren 45,4 % bzw. 58 % der Seren positiv. Signifikante Anstiege auf 71 % bzw. auf 93 % folgten am 7. ($x^2 = 8,78$; $p = 0,005$; $df = 1$) bzw. 9. Tag ($x^2 = 4,91$; $p = 0,05$; $df = 1$). Erst am 15. Tag konnten in 100 % der getesteten Seren NT-Antikörper nachgewiesen werden. Die NT-Antikörper blieben für den gesamten Beobachtungszeitraum von 3 Jahren in 100 % der Seren nachweisbar.

Die HAH-Antikörperentwicklung verlief in den ersten 3 Tagen schneller als die der NT-Antikörper. Alle Rekonvaleszentenseren wiesen jedoch, ebenso wie NT-Antikörper, erst nach ca. 15 Tagen HAH-Antikörper auf. Diese waren, ebenfalls in Übereinstimmung mit den NT-Antikörpern, bis zu 3 Jahren in 100 % der Serumproben nachweisbar.

Wie die Antikörpertiterverläufe in Abbildung 3 zeigen, betrugen 1 bis 2 Tage nach Krankheitsbeginn die mittleren Titer in der KBR 12, im NT 5,5 und im HAH 8. Zu diesem Zeitpunkt war die

Standardabweichung für die mittleren KBR-Titer mit 0,9 geringer als für die NT- (1,2) und HAH-Titer (1,6). Diese Titerunterschiede für KBR-, NT- und HAH-AK bleiben auch bei zunehmendem Titeranstieg bis ca. ± 7 Tage nach Krankheitsbeginn bestehen (KBR 3o, NT 13, HAH 16). Die Standardabweichungen sind bis zu diesem Zeitpunkt sehr groß. Dies zeigt, daß die Titerwerte für die einzelnen Patienten, entweder aufgrund unexakter Angaben des Krankheitsbeginns oder individuell, beträchtlich variieren. Ab 9 Tagen nach Krankheitsbeginn unterscheiden sich die mittleren Titer von KBR (44), NT (32) und HAH (38) nur noch wenig, und die Standardabweichungen sind geringer. Das Titer-Maximum war für die KBR-AK nach ± 15 Tagen (Mittlerer Titer: 54,6x/:2,1), für die NT-AK zwischen 15 und 25 Tagen (GMT: 5o,6x/:2,3) und für die HAH-AK nach 15 Tagen (GMT 56x/:2,8) erreicht. Diese mittleren KBR-, NT- und HAH-Titer, die etwa gleich hoch waren, blieben von 15 Tagen bis 6 Monate nach Krankheitsbeginn relativ konstant (mehr als 1 bis 6 Monate: KBR 48,5x/:2,8; NT 44,3x/:2,5; HAH 51x/:2,3). Danach fielen die mittleren KBR-Titer ab. Sie betrugen mehr als 6 Monate bis 1 Jahr bzw. 1 bis 3 Jahre nach Krankheitsbeginn noch 14,2 bzw. 12,4. Die mittleren NT- und HAH-AK-Titer sanken in diesem Zeitraum dagegen nur geringfügig auf Werte von 29 bzw. 28 ab.

5.1.3 Vergleich der KBR-Ergebnisse mit V-, S- und Vollantigen

Aus der Literatur (Henle 1948a,b) ist bekannt, daß bei Verwendung von definierten, löslichen S- (=soluble) und V-(Virus-Oberflächen-)Antigenen in der KBR in Patientenseren die Anti-S-Antikörper früher als die Anti-V-Antikörper nachweisbar sind und damit eine Frühdiagnose für Mumps gestellt werden kann.

Unsere oben aufgeführten KBR-Ergebnisse waren mit kommerziellen KBR-Mischantigenen ermittelt worden. Deshalb überprüften wir die Nachweisbarkeit und Titerhöhen der KBR-Antikörper unter Verwendung von käuflichen S- und V-KBR-Antigenen.

Wie Abbildung 4 zeigt, konnten mit dem S- und Misch-Antigen ± 2 Tage nach Krankheitsbeginn in 40 % der Seren Antikörper mit mittleren Titern von $2^{3,3}$ bzw. $2^{3,0}$, mit dem Mumps-V-Antigen dagegen schon in 70 % Antikörper mit einem mittleren Titer von $2^{4,1}$ nachgewiesen

werden. 7 Tage nach Krankheitsbeginn waren mit dem S-Antigen 76,5 %, mit dem V- und Misch-Antigen 82,3 % bzw. 82,4 % der untersuchten Seren positiv. Mit letzteren Antigenen wurden höhere mittlere Titer ($2^{5,4}$ bzw. $2^{5,0}$) erzielt als mit dem S-Antigen ($2^{4,4}$). 15 Tage nach Krankheitsbeginn reagierten 18 von 19 Seren (94,7 %) und 17 von 19 Seren (89,5 %) positiv mit dem S- und V-Antigen bzw. mit dem Mischantigen. Die mittleren Titer der Anti-S-Antikörper waren zu diesem Zeitpunkt und im weiteren Beobachtungszeitraum bis zu 2 1/4 Jahren nach Krankheitsbeginn stets niedriger als die Anti-V- und Anti-Mischantigen-AK. Mit dem Anti-V-Antigen wurden die höchsten mittleren Titer erzielt.

Ab dem 25. Krankheitstag und zu den späteren Zeitpunkten ist die Zahl der untersuchten Patientenseren für prozentuale Angaben zu gering. Es ist jedoch erkennbar, daß 25 Tage bis 6 Monate nach Krankheitsbeginn mit den 3 KBR-Antigenen in fast allen Seren Antikörper nachgewiesen werden können. Mit dem V-Antigen waren die KBR- AK auch noch bis zu 2 1/2 Jahren nach Krankheitsbeginn bei allen 5 geprüften Patientenseren meßbar, während dies mit dem S- und Misch-Antigen nur bei 2 bzw. 3 der 5 Seren der Fall war.
Zum Vergleich der Nachweisempfindlichkeit verschiedener käuflicher KBR-Misch-Antigene wurde außerdem mit 2o Seren aus der akuten Krankheitsphase eine KBR mit Behringantigen durchgeführt.
Bis auf höhere Titerwerte in einzelnen Seren waren die Ergebnisse im Hinblick auf die Zahl der Seropositiven gleich wie mit dem KBR-Antigen St. Gallen.

5.1.4 Spezifische IgM- und IgG-Mumps-Antikörperentwicklung im IFl.

Wie aus Abbildung 5 ersichtlich, konnten 3 bzw. 7 Tage nach Krankheitsbeginn bei 81 % bzw. 94 % der geprüften Seren IgM-Antikörper nachgewiesen werden. Die IgG-Antikörper waren zu diesen Zeitpunkten in 75 % bzw. 95 % vorhanden. 15 und 25 Tage nach Krankheitsbeginn hatten 1oo % der Patienten sowohl IgM- als auch IgG-AK im Serum. Die IgG-AK blieben bei allen Patienten über den geprüften Zeitraum von 2 1/2 Jahren nachweisbar. Dagegen konnten die IgM-AK 1 bis 3 Monate nach Erkrankung nur noch bei 5 von 7 (71,4 %) Patienten und nach mehr als 4 bis 8 Monaten bei keinem der 9 Patienten mehr gemessen werden. Von mehreren Patienten

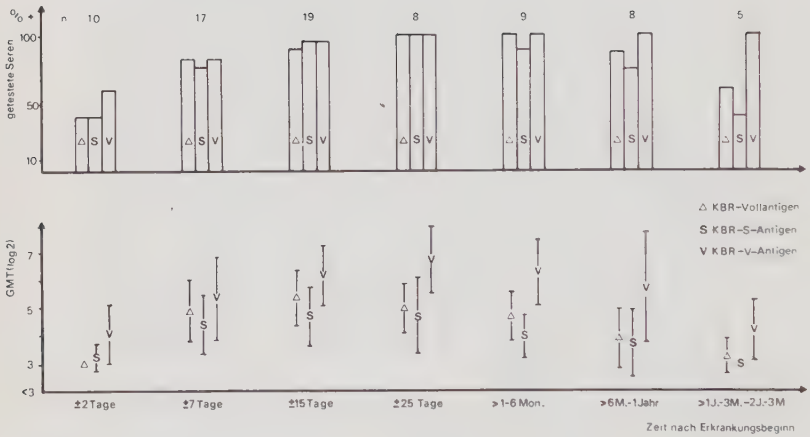


Abb. 4

KBR-Antikörperentwicklung und -Verlauf bei 46 Mumpspatienten mit KBR-Voll-, S- und V-Antigen

Niederste Serumverdünnung 1:8

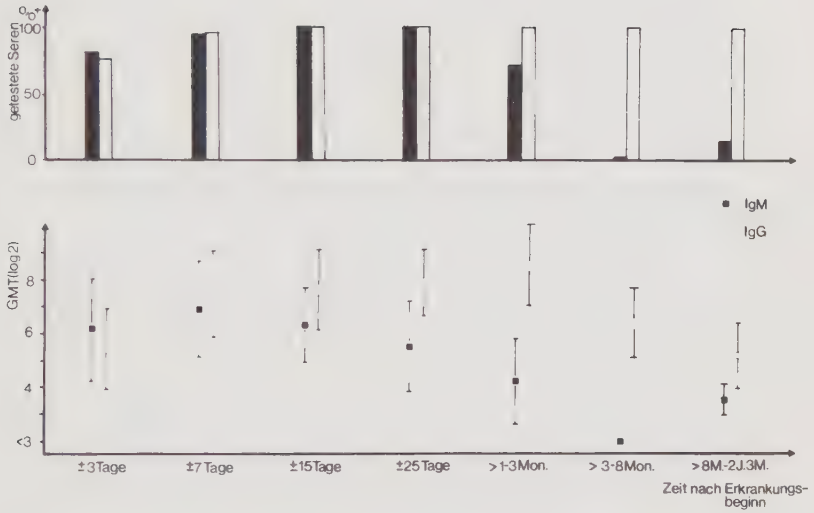


Abb. 5

IgM- und IgG-Antikörperentwicklung und -Verlauf im IFl bei 58 Mumpspatienten

Niederste Serumverdünnung: IgM 1:8, IgG 1:4

standen uns aus der frühen Rekonvaleszenz und mehr als 8 Monate bis 2 1/4 Jahre nach Erkrankungsbeginn Seren zur Verfügung. Bei 4 dieser Patienten, die auch 15 Tage nach Krankheitsbeginn IgM-AK positiv waren, konnten nach 11 Monaten, 2 mal nach 1 1/2 und 1 mal nach 1 3/4 Jahren IgM-AK nachgewiesen werden. Von diesen Patienten befand sich eine Patientin während der Mumpserkrankung in der Gravidität, ein 22jähriger Patient hatte Parotitis und Orchitis, ein 11jähriger und ein 6jähriger Patient hatten Parotitis mit Meningitis.
Die IgM -AK sind nicht nur früher nachweisbar als die IgG-AK, sondern sie weisen auch während der ersten 3 Krankheitstage höhere Titer auf. 7 Tage nach Krankheitsbeginn hatten die IgM-Titer mit einem GMT von $2^{6,9}$ ihr Maximum erreicht, das mehr als 1 bis 3 Monate nach Krankheitsbeginn auf $2^{4,2}$ absank. Die IgM-Titer, die in 4 Fällen noch 8 Monate bis 1 3/4 Jahre nach Erkrankung gefunden wurden, lagen mit $2^{3,5}$ an der Grenze der spezifischen Nachweisbarkeit.

Der mittlere IgG-Titer, der 7 Tage nach Krankheitsbeginn bei $2^{7,5}$ lag, stieg im Verlauf von 1 bis 3 Monaten auf seinen Maximalwert von $2^{8,6}$ an und fiel zwischen 4 und 8 Monaten bzw. zwischen 8 Monaten und 2 1/4 Jahren auf $2^{6,4}$ bzw. $2^{5,4}$ ab.

5.1.5 Mumps-Antikörperentwicklung und Persistenz im HIG-Test

In Abbildung 6 sind die Ergebnisse des HIG-Testes mit Standardabweichungen für die mittleren Durchmesser der Hämolysehöfe graphisch dargestellt. Die mittlere Größe der Hämolysehöfe betrug ± 3 Tage nach Erkrankungsbeginn bei 74 % der Seren 8,2 ± 3,3 mm, nach ± 7 Tagen bei 100 % 10,8 ± 2,4 mm und erreichte nach ± 15 Tagen ihren Höchstwert mit 12,9 ± 2,4 mm. Danach nahmen die mittleren Durchmesser wieder ab und waren nach 1 bis 3 Jahren mit 9,9 mm nur um 3 mm kleiner als der Höchstwert. Bei einzelnen Seren, die sofort bei Beginn der ersten Symptome entnommen worden waren, beobachteten wir große nur ganz schwach lysierte Höfe. Diese waren wahrscheinlich auf die Gegenwart reiner IgM-AK zurückzuführen. Mit dem HIG ist auch ohne Serumverdünnungsreihe eine quantitative Aussage über den Antikörpergehalt möglich.

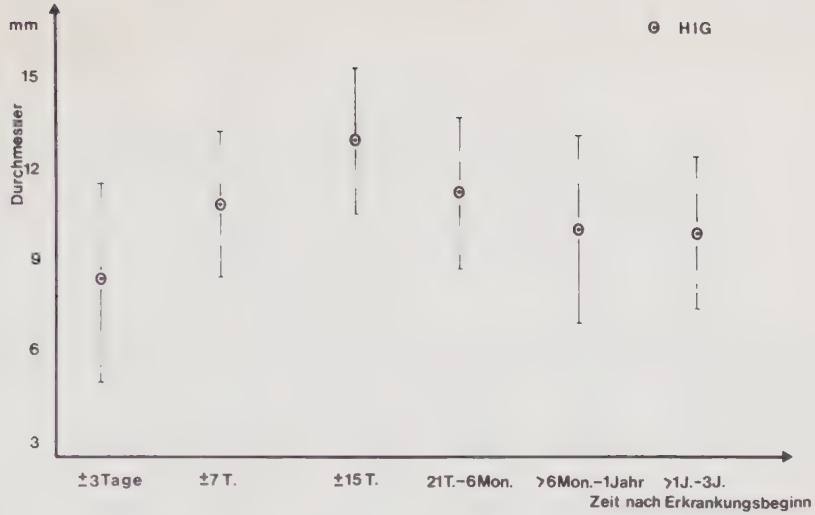


Abb. 6

Mumps-Antikörperentwicklung im HIG-Test bei 32 Mumpspatienten

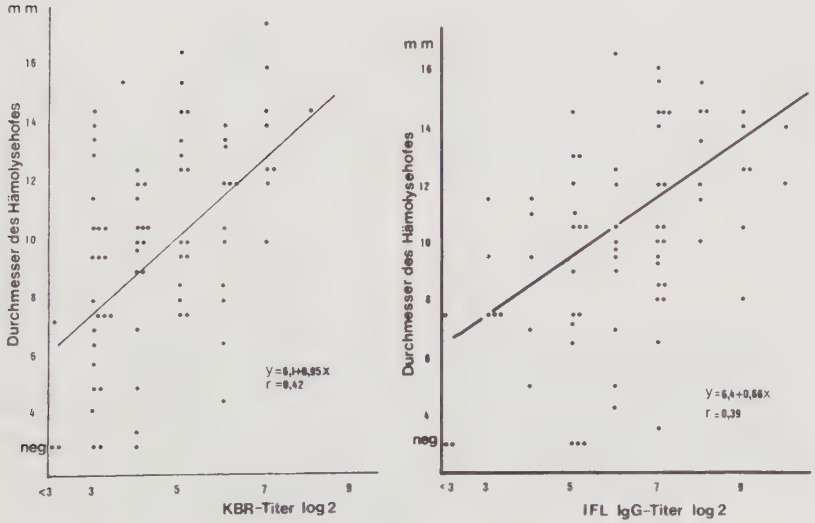


Abb. 7a und 7b

Korrelation zwischen HIG-Durchmessern und KBR-Titern bzw. IFl-IgG-Titern der Mumps-Antikörper in 86 Rekonvaleszenten-Seren

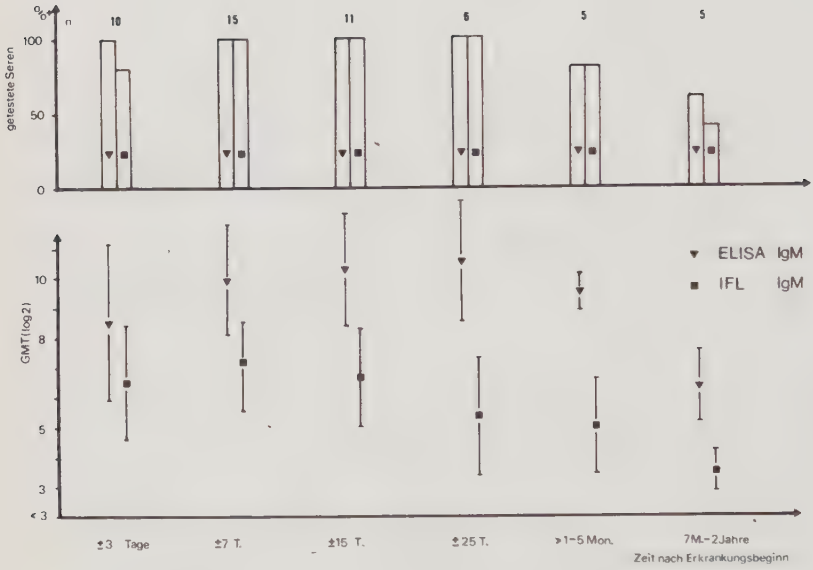


Abb. 8a

Mumps-IgM-Antikörperentwicklung und -Verlauf im ELISA und IFl bei 33 Mumpspatienten

Niederste Serumverdünnung: ELISA IgM 1:16, IFl IgM 1:8

Die im HIG erhobenen AK-Befunde wurden mit den in der KBR bzw. im IF1-IgG-Test ermittelten AK-Titern verglichen. In den Abbildungen 7a und 7b sind die einander entsprechenden Werte für die HIG- und die KBR-AK bzw. die HIG- und IF1-IgG-AK mit den Regressionsgeraden und den Korrelationskoeffizienten eingetragen.
Daraus ist ersichtlich, daß trotz der differenzierten Reaktion der HIG-Durchmesser in Abhängigkeit vom Krankheitsbeginn keine gute lineare Abhängigkeit zwischen den Durchmessern der Hämolysehöfe des HIG und den KBR-Titern ($r = 0,4$) und auch nicht zu den IF1-IgG-Titern ($r = 0,4$) besteht.

5.1.6 IgM- und IgG-AK Entwicklung und Persistenz im ELISA

Die Spezifität und Empfindlichkeit des neu entwickelten ELISA-Testes zum Nachweis von Mumps-IgM- und IgG-AK gegenüber dem IF1 wurden anhand von 52 ausgewählten Seren verglichen. Für die IgM- und IgG-AK-Bestimmungen wurden als niederste Serumverdünnungen im ELISA 1:16 und im IF1 1:8 bzw. 1:4 verwendet.

Der Vergleich der beiden Testarten zum Nachweis der IgM- und IgG-Antikörperentwicklung ist in den Abbildungen 8a und 8b zusammengefaßt. Wie die Abbildung 8a zeigt, konnten 3 Tage nach Krankheitsbeginn im ELISA-Test IgM-AK in allen Seren (10/10) und im IF1 in 8 von 10 Seren nachgewiesen werden. Am 7., 15. und 25. Tag waren alle Seren in beiden Testarten IgM-positiv.

1 bis 5 Monate und 7 Monate bis 2 Jahre nach Krankheitsbeginn wurden mit dem ELISA IgM-AK noch in 4 bzw. 3 von 5 Seren und mit dem IF1 in 4 bzw. 2 von 5 Seren gefunden. Die mittleren IgM-Titer,die im unteren Teil der Abbildung 8a dargestellt sind, waren im ELISA während des Beobachtungszeitraumes um 2 bis 3 $\log_2$-Stufen höher als im IF1. Sie stiegen im ELISA von $2^{8,3}$ am 3. Krankheitstag auf $2^{9,9}$ und $2^{10,2}$ bis $2^{10,3}$ am 7., 15. und 25. Krankheitstag an. Nach 1 bis 5 Monaten und 7 Monaten bis 2 Jahren wiesen sie noch Werte von $2^{9,5}$ bzw. $2^{6,3}$ auf.

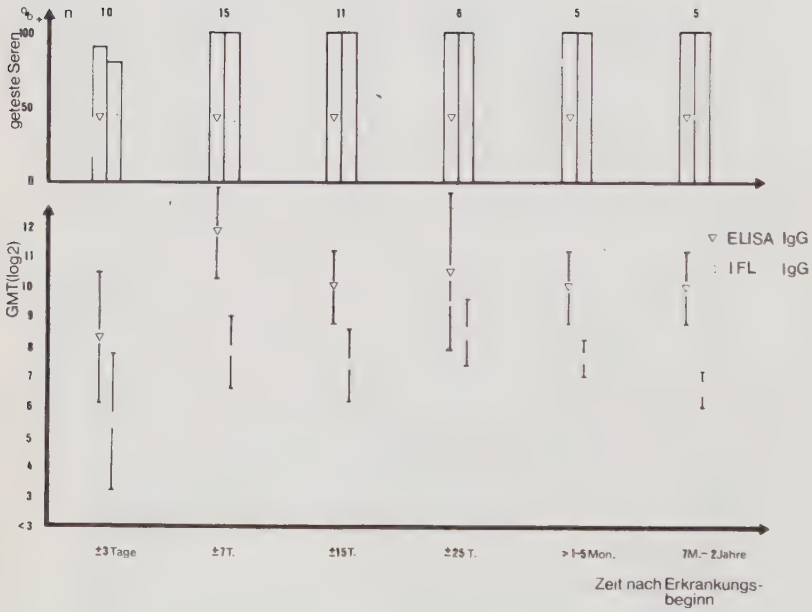


Abb. 8b

Mumps-IgG-Antikörperentwicklung und -Verlauf im ELISA und IF1 bei 33 Mumpspatienten

Niederste Serumverdünnung: ELISA IgG 1:16, IF1 IgG 1:4

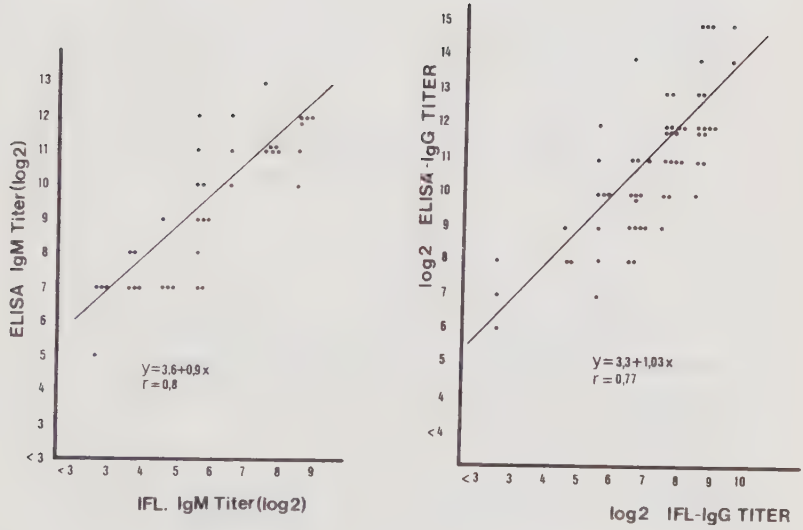


Abb. 9a und 9b

Korrelation zwischen den im ELISA und IFl gemessenen IgM- bzw. IgG-Antikörpertitern in 52 Patientenseren

Bei Vergleich des IgG-Antikörpernachweises in beiden Testarten (Abbildung 8b) stellten wir ebenfalls eine höhere Empfindlichkeit des ELISA gegenüber dem IF1 fest. So konnten 3 Tage nach Krankheitsbeginn im ELISA in 9 der 10 Seren und im IF1 in 8 der 10 Seren IgG-AK nachgewiesen werden. Danach waren alle zu den angegebenen Zeitpunkten untersuchten Seren positiv. Die höchsten mittleren Titer betrugen im ELISA $2^{11,9}$ und im IF1 $2^{8,5}$, wobei die Zeitpunkte der Titermaxima differierten. In beiden Testarten blieben die IgG-AK für mindestens 2 Jahre in nur wenig abfallenden Titern bestehen. Insgesamt sind die IgG-Titer im ELISA um ca. 3 $\log_2$-Stufen höher als im IF1.

Aus den Abbildungen 9a und 9b ist ersichtlich, daß für die im ELISA und im IF1 gemessenen IgM- und IgG-AK-Titer eine lineare Abhängigkeit mit Korrelationskoeffizienten (r) von 0,8 besteht.

5.2 Individuelle Mumps-Antikörperentwicklung und Persistenz

In der Antikörperverlaufsstudie wurden die Antikörperbefunde von 211 Mumpspatienten in Abhängigkeit vom Krankheitsbeginn ermittelt ohne Berücksichtigung der verschiedenen Symptomatik, des Alters und weiterer individueller Faktoren.

Wir haben deshalb aus unserem Patientengut, das das Gesamtspektrum aller diagnostischen Mumps-Probleme umfaßt, repräsentative Beispiele ausgesucht und deren Antikörperentwicklung und Titerverläufe in den Abbildungen 10a, 10b und 10c dargestellt.

In Abbildung 10a sind in Fall I und II die AK-Verläufe bei einem 6jährigen und einem 7jährigen Mädchen mit Parotitis wiedergegeben. Bei gleichem Entnahmezeitpunkt des 1. Blutes, 5 bis 6 Tage nach Krankheitsbeginn, konnte im Fall I bei Einsendung des 2. Blutes vom 15. bis 16. Krankheitstag in den angegebenen Testarten - außer für die IgM-AK - ein signifikanter Titeranstieg nachgewiesen werden. In Fall II war ein signifikanter Antikörperanstieg dagegen nur noch im NT möglich.

In beiden Fällen konnten wir aber schon am 5. bzw. 6. Krankheitstag anhand der positiven IgM-Titer im 1. Blut mit Sicherheit die Diagnose frische Mumpsinfektion stellen.
Wie die Titerkontrollen 1 1/2 bzw. 2 Jahre nach Erkrankungsbeginn zeigen, waren die IgM-AK nicht mehr nachweisbar.

Die IF1-IgG, die NT- und HAH-AK-Titer waren gegenüber ihrem Maximaltiter um 2 bis 2,5 $\log_2$ reduziert und die KBR-AK auf Titer von 8 bzw. 16 abgefallen.

In Fall III und IV sind die AK-Titerverläufe bei einer 44jährigen Frau mit Parotitis und einem 22jährigen Mann mit Parotitis und Orchitis dargestellt. In beiden Fällen wurde das 1. Blut ± 2 Tage und das 2. Blut 9 bis 12 Tage nach Krankheitsbeginn entnommen.

In Fall III kam es zu signifikanten Titeranstiegen in allen Testarten, mit Ausnahme der ELISA-IgG-, der IF1-IgM-und der HAH-AK.

Im Fall IV konnten signifikante Titeranstiege in KBR, HAH und NT, nicht aber im IF1(-IgG undIgM)nachgewiesen werden, da für letztere Testarten schon Maximalwerte vorlagen. Für beide Patienten war es wiederum durch Nachweis von erhöhten IgM-AK-Titern im 1. Blut möglich, eine Schnelldiagnose auf frische Mumpsinfektion zu stellen.

Im Fall III standen eine Vielzahl von Serumproben zur Verfügung, so daß die Titerverläufe bis zu 2 Jahren in allen Testarten gut verfolgt werden konnten. Die IgM-AK sanken zwischen 1 und 3 Monaten unter die Grenze der Nachweisbarkeit ab, während die AK-Titer in den übrigen Testarten bis zu 1 Jahr konstant blieben und danach leicht abfallende Tendenz zeigten.

Bei Fall IV mit der Komplikation Orchitis persistierten die IgM-AK länger und konnten noch 1 1/2 Jahre nach Krankheitsbeginn in niederen Titern nachgewiesen werden.

In Abbildung 10b sind die Titerverläufe bei 4 Fällen mit Mumps-Komplikationen im Alter von 2 bis 22 Jahren dargestellt. Daraus ist ersichtlich, daß bei früher Entnahme der 1. Blutprobe und dem Eintreffen einer 2. Blutprobe ± 10 Tage später in den angegebenen Testarten,mit Ausnahme der IgM-AK,signifikante AK-Anstiege nach-

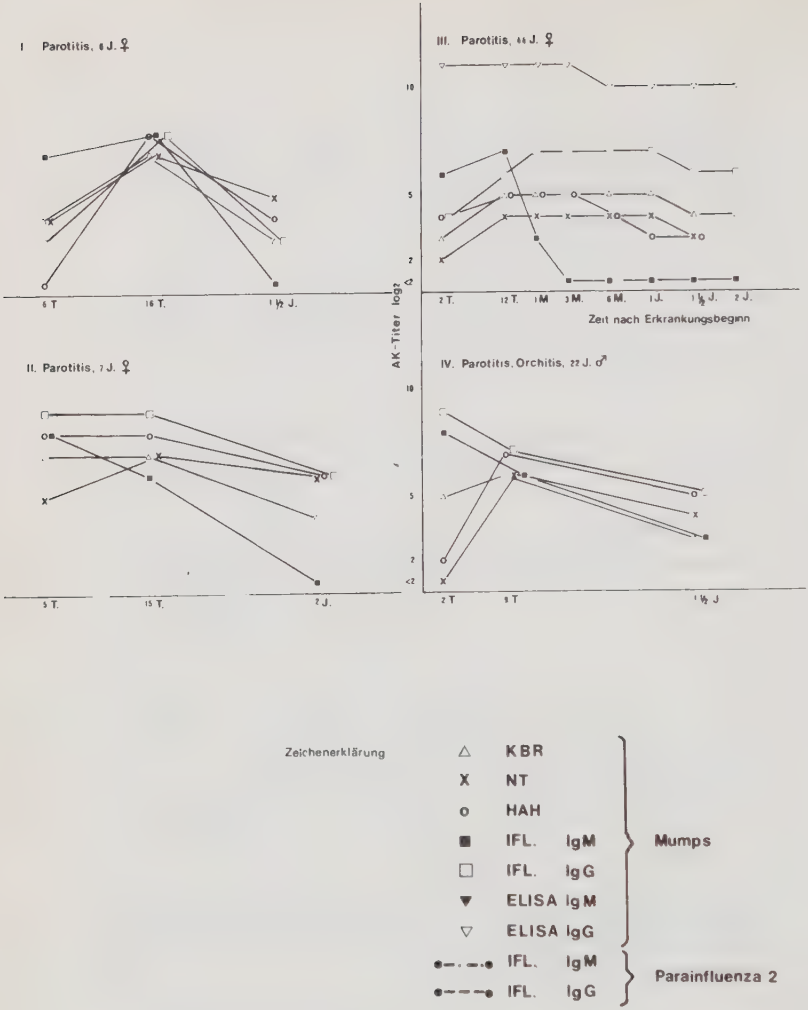


Abb. 10 a

Mumps-Antikörperentwicklung und Titerverläufe in den verschiedenen Testarten bei 2 Kindern mit Parotitis und 2 Erwachsenen mit Parotitis und Parotitis/Orchitis

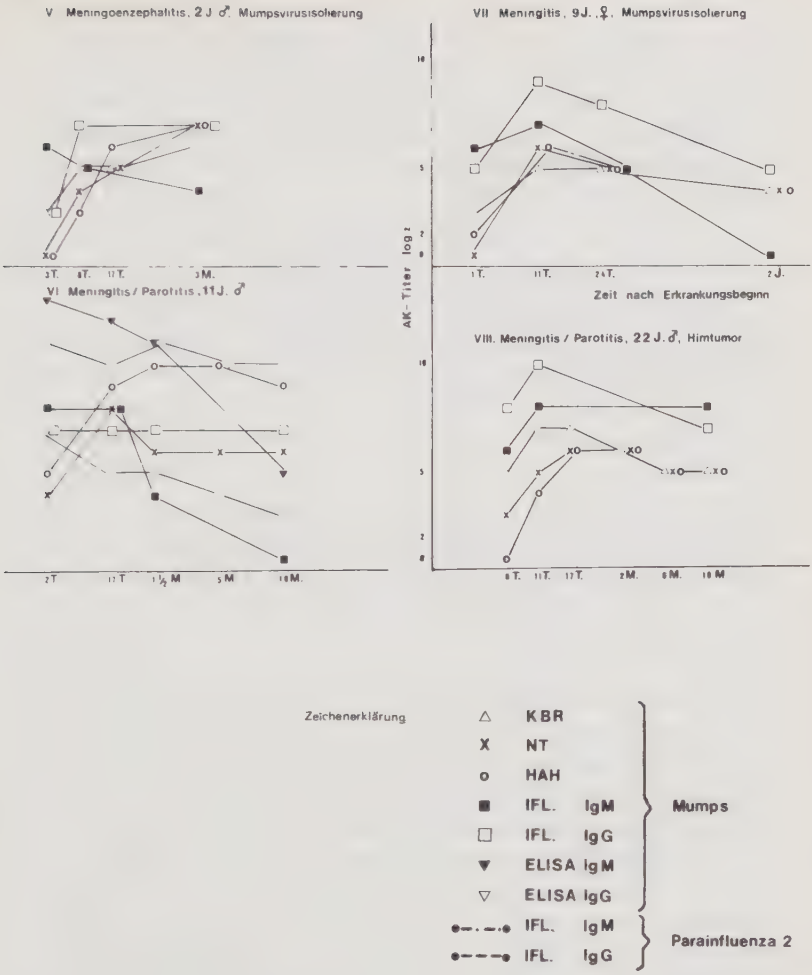


Abb. 10 b

Mumps-Antikörperentwicklung und Titerverläufe in den verschiedenen Testarten bei 3 Kindern mit Meningitis, Meningoenzephalitis und einem Erwachsenen mit Meningitis

gewiesen werden können. Mit Hilfe des IgM-AK-Nachweises im ELISA und IF1-Test war es auch hier in allen Fällen möglich, mit dem 1. Blut eine Schnelldiagnose zu stellen. Auffällig ist, daß unabhängig vom Alter die IgM-AK bei Komplikationen länger nachweisbar bleiben als bei unkomplizierter Mumpserkrankung. So waren z.B. in Fall V und Fall VI und dem Sonderfall VIII mit Hirntumor noch länger als 3 bzw. länger als 10 Monate nach Erkrankungsbeginn IgM-AK vorhanden.

Bei Fall VI wird deutlich, daß die Nachweisbarkeit z.B. von geringen Konzentrationen von IgM-AK von der Empfindlichkeit der Testart abhängt. So wurden die IgM-AK 10 Monate nach Krankheitsbeginn nur noch mit dem ELISA, aber nicht mehr mit dem IF1-Test erfaßt.

Ein wichtiges diagnostisches Problem ist die Erfassung von frischen Mumpsinfektionen in der Schwangerschaft.

Abbildung 10 c zeigt die AK-Titerverläufe von 4 Schwangeren, bei denen in Mens 2, Mens 8 und kurz vor der Entbindung eine Mumpsverdächtige Parotitis auftrat.
Fall IX, X und XII hatten 1 bis 4 Tage nach Beginn der ersten Symptome 10 ml Gammaglobulin erhalten.

Die erste Blutprobe war in Fall IX, X und XI ± 1 Tag und in Fall XII 7 Tage und die zweite Blutprobe 9 bis 27 Tage nach Krankheitsbeginn entnommen worden. In Fall IX und X stiegen die AK-Titer in allen Testarten im Verlauf von 20 bis 25 Tagen signifikant an. Dies gilt auch für die IgM-AK-Titer im ELISA- und IF1-Test und zeigt, daß die AK-Titerhöhen anscheinend von der späten Gammaglobulingabe nicht negativ beeinflußt wurden. Für die Beurteilung, ob die Gammaglobulingabe die Antikörperentwicklung verzögerte, wie es bei Fall X am 13. Tag im Vergleich zu Fall XI am 9. Tag für die K8R-, NT- und HAH-AK vermutet werden könnte, sind die Entnahme-Zeitpunkte der Blutproben nicht einheitlich genug. Die Höhe der erreichten Maximaltiter ist bei den Fällen IX, X und XI etwa gleich. Von Interesse ist, daß die IgM-AK-Titer sowohl im ELISA als auch im IF1, besonders in Fall IX und X am ersten Krankheitstag höher sind als die IgG-Titer.
Außerdem ist die Persistenz der IgM-AK, die insbesondere mit dem ELISA-Test nachweisbar sind, bei den in Mens 2 und 8 durchgemachten Mumpsinfektionen verlängert, während die sonstigen AK-Titerverläufe in etwa den bei den anderen Patienten bzw. den in der Antikörperver-

laufsstudie angegebenen Mittelwerten entsprechen. In den Fällen IX, X und XII können wir leider keine Aussagen darüber machen, ob die Kinder bei der mütterlichen Mumpsinfektion infiziert wurden, da keine kindlichen Blutproben eingesandt wurden; jedoch waren die Kinder klinisch gesund.

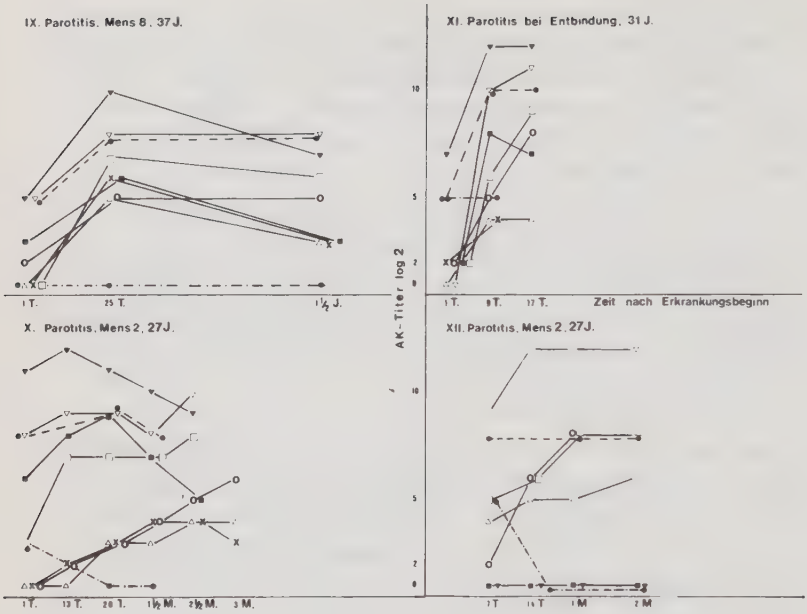
In Fall XI, bei dem die Parotitis einen Tag vor der Entbindung auftrat, konnten außer weiteren mütterlichen Blutproben (9. und 17. Tag nach Krankheitsbeginn) auch das Nabelschnurblut und eine kindliche Blutprobe vom 7. Lebenstag untersucht werden. Wir konnten weder im Nabelschnurblut noch im kindlichen Blut Mumps-AK der IgM- und IgG-Klasse nachweisen. Nach Angabe des Einsenders war das Kind bei Geburt gesund und blieb es auch.

In den drei Fällen IX, X und XI konnte aufgrund der IgM- und IgG-AK-Befunde in den verschiedenen Testarten mit Sicherheit eine frische Mumpsinfektion als Ursache der Parotitis angenommen werden. Im Fall XII, der 4. Gravida mit Parotitis, die ebenfalls am 1. und 2. Tag der Erkrankung je 5 ml Gammaglobulin erhalten hatte, war die Situation jedoch weniger klar. Wir stellten zwar 1 bis 2 Wochen nachKrankheitsbeginn noch signifikante Titeranstiege der Mumps-IgG-AK im ELISA und der HAH-AK (16fach), sowie geringere Anstiege für die KBR-AK (4fach) fest, jedoch konnten wir 8 bis 14 Tage, 1 und 2 Monate nach Krankheitsbeginn weder im IF1 noch im empfindlichen ELISA IgM-AK nachweisen. Aufgrund der letzteren Tatsache führten wir Zusatzuntersuchungen für Parainfluenza 2-AK im IF1 durch. Dabei fanden wir nur in der 1. Woche nach Krankheitsbeginn einen IgM-AK-Titer von 32, der mit 64 wiederholbar war und gleichbleibend hohe IgG-AK-Titer von 256 und KBR-AK-Titer von 32.

Es blieb unklar, ob eine Reinfektion mit Mumpsvirus oder eine frische Parainfluenza-2-Virus-Infektion mit Boostereffekt auf die präexistenten Mumps-AK der IgG-Klasse vorlag.

5.3 Homologe und heterologe AK-Reaktionen bei frischer Mumpsinfektion für Mumps und Parainfluenzavirus 2

Aus der Literatur (Lennette, 1963; Hsiung, 1963) und aus den Beobachtungen in der Virusabteilung Stuttgart sind die serologischen Kreuzreaktionen bei Mumps- und Parainfluenzavirusinfektionen bekannt. Sie



Zeichenerklärung

△	KBR	Mumps
X	NT	
o	HAH	
■	IFL. IgM	
□	IFL. IgG	
▼	ELISA IgM	
▽	ELISA IgG	
●–·–·–●	IFL. IgM	Parainfluenza 2
●– – –●	IFL. IgG	

Abb. 10 c

Mumps-Antikörperentwicklung und Titerverläufe in den verschiedenen Testarten bei 4 schwangeren Frauen mit Parotitis und Parainfluenza 2-Antikörperentwicklung im IFl (IgM und IgG)

Tabelle 5: KBR-, IF1-IgG und IgM-Antikörpertiter für Mumps und Parainfluenzavirus 2 bei 18 Patienten mit frischer Mumpserkrankung (Parotitis/Meningitis)

Alter	Serumproben Nr.	Zeit nach Erkr.beginn	Mumps KBR	Mumps IF1 IgG	Mumps IF1 IgM	Parainfluenza II KBR	Parainfluenza II IF1 IgG	Parainfluenza II IF1 IgM
4-6 Jahre n = 5	1.	1 Tag	8	16	8	-	< 8	< 8
	2.	15 Tage	64	128	64	-	< 8	< 8
	1.	5 Tage	128	256	64	32	256	< 8
	2.	27 Tage	64	256	8	32	256	< 8
	1.	6 Tage	32	512	64	32	1o24	< 8
	2.	19 Tage	64	1o24	128	128	2o48	< 8
	1.	8 Tage	64	512	32	-	128	< 8
	2.	19 Tage	512	512	8	-	512	< 8
	1. a)	1o Tage	32	256	128	-	1o24	< 8
6-12 Jahre n = 7	1. a)	12 Tage	32	256	64	-	512	< 8
	2.	24 Tage	32	512	16	-	512	< 8
	1.	5 Tage	128	512	16	256	1o24	< 8
	2.	1o Tage	64	512	16	128	1o24	< 8
	1.	8 Tage	32	256	512	-	16	< 8
	2.	23 Tage	128	1o24	512	-	32	< 8
	1.	14 Tage	64	512	128	128	1o24	< 8
	1.	2 Tage	128	128	256	32	256	< 8
	2.	15 Tage	32	128	256	16	128	< 8
	3.	1o Monate	8	128	< 4	8	128	< 8
	1. a)	1 Tag	8	32	64	< 8	-	-
	2.	11 Tage	32	512	128	32	-	-
	3.	1 J. 10 Mo.	16	32	< 4	32	64	< 8
	1. a)	6 Tage	8	128	64	-	-	-
	2.	1 Monat	-	512	64	-	128	< 8

Fortsetzung Tabelle 5

Alter	Serumproben Nr.	Zeit nach Erkr.beginn	Mumps KBR	Mumps IF1 IgG	Mumps IF1 IgM	Parainfluenza II KBR	Parainfluenza II IF1 IgG	Parainfluenza II IF1 IgM
	1.[b]	1 Tag	8	32	8	128	256	< 8
	2.	18 Tage	8	64	32	128	1o24	< 8
	1.	3 Tage	< 8	8	16	-	128	< 8
	2.	1o Tage	16	64	64	-	512	< 8
	1.[b]	1 Tag	< 8	< 8	< 8	-	32	< 8
	2.	25 Tage	32	128	16	-	256	< 8
	3.	1 1/2 Jahre	8	64	8	-	256	< 8
17-74 Jahre n = 6	1.[b]	1 Tag	< 8	8	64	< 8	256	8 ?
	2.	2o Tage	8	128	512	8	512	< 8
	3.	51 Tage	16	128	128	16	256	< 8
	1.[b]	1 Tag	ak[c]	8	8	-	32	32 ?
	2.	9 Tage	16	64	256	-	1o24	32 ?
	3.	17 Tage	16	512	128	-	1o24	-
	1.	2 Tage	8	16	64	-	128	< 8
	2.	13 Tage	32	64	128	-	128	< 8
	3.	82 Tage	32	128	8	-	128	< 8

a) = Mumpsvirus aus Liquor isoliert

b) = gravide Patientin

c) = ak = antikomplementär

Tabelle 6: KBR-, IFL-IgG- und IgM- Antikörpertiter für Parainfluenza 2 und Mumps bei Patienten mit frischer Parainfluenza 2-Erkrankung

Alter	Symptomatik	Serumproben (Nr.) Zeit nach Erkrankungsbeginn	Parainfluenza II			Mumps		
			KBR	IgG	IgM	KBR	IgG	IgM
6 Jahre	Ataxie, Fieber	1. 2 Tage	<8	64	32	<8	64	<8
		2. 9 Tage	32	-	-	32	-	-
6 Jahre	Infektion der unteren Luftwege	1. 8 Tage	128	1o24	64	-	1o24	<8
		2. 15 Tage	64	1o24	128	-	128	<8
17 Jahre	Exanthem, Fieber (40^{0} C)	1. 13 Tage	256	1o24	1o24	-	1o24	<8
		2. 23 Tage	256	1o24	512	-	256	<8
		3. 38 Tage	256	1o24	512	-	128	<8
74 Jahre	Infektion der unteren Luftwege	1. 3 Tage	256	2o48	1o24	-	128	<8
27 Jahre	Parotitis in 8. SSW (Gammaglobulin)	1. 8 Tage	32	256	32?	16	32	<8
		2. 14 Tage	32	256	<8	32	64	<8
		3. 1 Monat	32	256	<8	32	256	<8
		4. 2 Monate	32	256	<8	64	256	<8

kommen mit allen 4 Parainfluenzavirustypen vor und sind nicht nur in der KBR und im HAH (Lennette, 1963) sondern auch im NT und im IFl (Brown, 1969) erfaßbar.

Wir führten diesbezügliche Untersuchungen zunächst nur für das Parainfluenzavirus 2 im IFl und zum Teil auch in der KBR durch. In Tabelle 5 sind die für Mumps und Parainfluenzavirus 2 in der KBR und IFl ermittelten IgM- und IgG-AK-Titer für 18 Patienten mit frischer Mumpsinfektion verschieden lange nach Infektionsbeginn zusammengestellt.
Die Patienten wurden in Altersgruppen (von 4 bis 6, 6 bis 12 und 17 bis 74 Jahren) unterteilt, um so die immunologische Erfahrung mit Parainfluenzainfektionen in Abhängigkeit vom Alter besser zu erfassen. Von allen 18 Patienten mit serologisch eindeutig bestätigten frischen Mumpsinfektionen (signifikante Titeranstiege in KBR und/oder IFl-IgG und Titeranstiege oder gleichbleibend hohe IgM-AK) hatte nur 1 Patient bisher keine Parainfluenza-Virus 2-Infektion durchgemacht und so fand bei ihm auch keine Boosterung statt. Bei den anderen 17 Patienten stellten wir dagegen mehr oder weniger signifikante Titeranstiege oder gleichbleibend hohe Titer in der KBR und im IFl für die IgG-AK fest.
IgM-AK für Parainfluenza 2 konnten jedoch bis auf 2 Ausnahmen nicht nachgewiesen werden. Hier handelte es sich um Schwangere, deren Titerverläufe in Abbildung 10c (Fall 10 und 11) dargestellt sind. Bei Fall 10 wurde am 1. Tag nach Krankheitsbeginn ein schwach positiver IgM-Titer für Parainfluenza 2 von 8 und bei Fall 11 am 1. und 8. Krankheitstag ein IgM-Titer von 32 gefunden. Dabei ist zu erwähnen, daß die Intensität und Art der Immunfluoreszenz bei den Fällen 10 und 11 deutlich anders war als es für die Parainfluenza-2-Immunfluoreszenz charakteristisch ist.

5.4 Homologe und heterologe AK-Reaktionen bei frischer Parainfluenza 2-Infektion für Parainfluenza und Mumps.

Bei 4 Patienten - 2 Kindern und 2 Erwachsenen - mit den in Tabelle 6 angegebenen Krankheitsbildern konnten wir signifikante Titeranstiege für Parainfluenza 2 in der KBR bzw. gleichbleibend hohe IFl-IgG-Titer und erhöhte oder ansteigende IgM-Titer feststellen. Die serologischen

Befunde bewerteten wir als Bestätigung einer frischen Parainfluenza-2-Infektion. Für Mumps waren keine IgM-AK, sondern nur Titeranstiege in der KBR bzw. hohe IF1-IgG-Titer als Ausdruck des Boostereffektes der Parainfluenzavirus 2-Infektion auf präexistente Mumps-AK nachweisbar.

Wie diese Ergebnisse zeigen, läßt sich nur anhand der spezifischen IgM-AK feststellen, ob es sich um eine frische Mumps- oder Parainfluenzainfektion handelt. Ohne die Bestimmung von IgM-AK können selbst bei signifikanten Titeranstiegen in allen Testarten für Mumps keine eindeutigen diagnostischen Schlüsse gezogen werden.

In Abbildung 11 sind diese Beziehungen zwischen Mumps und Parainfluenza 2 IgG- und IgM-AK bei frischer Mumps- oder Parainfluenza 2-Infektion dargestellt.

Es ist ersichtlich, daß die IgG-AK bei Mumps- und Parainfluenza-Infektionen heterolog vorhanden sein können, während IgM-AK nur homolog auftreten.

5.5 Mumpsantikörperentwicklung nach aktiver Schutzimpfung mit Mumps-monovalentem, bivalentem Masern-Mumps- und trivalentem Masern-Mumps-Röteln-Kombinations-Lebendimpfstoff

5.5.1 Impflingskollektiv

30 Kinder im Alter von 1 bis 15 Jahren (Durchschnittsalter 5,4 Jahre $\pm$ 2,9 Jahre) wurden mit dem monovalenten Mumpslebendimpfstoff (Mumpsvax) und 18 Kinder im Alter von 2 bis 9 Jahren (Durchschnitt: 3,9 $\pm$ 2,1 Jahre) mit dem Masern-Mumps-Lebendimpfstoff M-M-Vax geimpft. Die Blutentnahme erfolgte kurz vor und 9 bis 21 Wochen nach der Impfung (Kölner Impfstudie Behringwerke; Stehr, 1975 a). 72 Kinder der Münchner Impfstudie (Kinderklinik und Poliklinik der TU München, Landesuntersuchungsamt für das Gesundheitswesen Südbayern; Stehr, 1975 b) im Alter von 1 bis 12 Jahren erhielten die Masern-Mumps-Röteln-Vakzine. Die Blutproben wurden vor und 6 Wochen nach der Impfung entnommen.

Die Mumps-AK-Bestimmungen erfolgten im NT und HAH, bei einigen Probanden zusätzlich in der KBR, im HIG, im IF1 und im ELISA. Die Serumpaare der einzelnen Impflinge wurden jeweils im gleichen Testansatz geprüft. Die niederste Serumverdünnung war für

den NT, den HAH, den IF1 und die KBR 1:4, für den ELISA 1:16. Im HIG-Test wurde das unverdünnte Serum verwendet.

Bei den mit Masern-Mumps-Impfstoff bzw. Masern-Mumps-Röteln-Impfstoff immunisierten Kindern wurde auch die Masernantikörperentwicklung im Masern-HAH untersucht (Stehr, 1975). Diese wurde mit Masern-Spaltantigen, einer 1%igen Cerco-Erythrozytensuspension und mit DGV-Puffer + Rinderalbumin durchgeführt.

5.5.2 AK-Befunde

In der Tabelle 7 sind die Mumps-AK-Befunde für die prävakzinal seronegativen Probanden nach Impfung mit Mumps-mono- und Mumps-Masern-bivalent- und trivalent-Vakzine zusammengefaßt. Bei den 1 bis 2jährigen Kindern waren die prävakzinalen Seren in allen Testarten negativ, während bei einigen der älteren Kindern (3 bis 15 Jahre) in den prävakzinalen Seren gelegentlich niedrige NT- und HAH-AK-Titer, jedoch nie KBR- und IF1-AK, nachweisbar waren.
Wie aus der Literatur bekannt (Buynak, 1969; Hilleman, 1975; Sarateanu, 1978), waren auch bei unserer Voranalyse der Ergebnisse keine Unterschiede in der Immunantwort der mono- und der bivalent bzw. trivalent geimpften Gruppen feststellbar.

Wie die Tabelle 7 zeigt, betrug die Konversionsrate 6 bis 21 Wochen nach Impfung im NT und HAH bei etwa gleichen Probandenzahlen 78,5 % bzw. 95,5 % und die mittleren Titer $2^{3,0}$ bzw. $2^{2,9}$. In der KBR, im IF1-IgG und HIG-Test lägen die Konversionsraten für 34 bzw. 29 bzw. 56 geprüfte Impflinge bei 56 %, 9o,4 % und 87,5 %. Die mittleren Titer in der KBR und im IF1-IgG betrugen $2^{2.5}$ und $2^{3,5}$.

Im ELISA-Test war die Konversionsrate für die 21 untersuchten Probanden 100 % und der mittlere Titer $2^{8,1}$.
Die 100 % Konversionsrate im empfindlichen ELISA ist jedoch wegen der gezielten Auswahl der Seren nicht uneingeschränkt mit den im HAH und NT festgestellten Konversionsraten vergleichbar.
Bei 29 bzw. 21 Impflingen wurde im IF1 bzw. ELISA auch die IgM-AK-Entwicklung untersucht. Bei den prävakzinal seronegativen Impflingen konnten IgM-AK in 68 % (14/21) bzw. 75 %

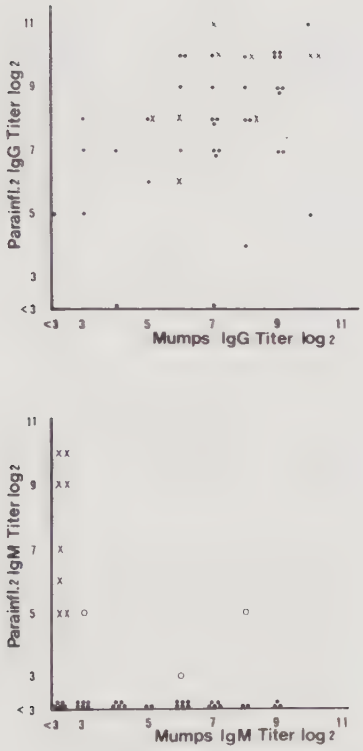


Abb. 11

Beziehungen zwischen Mumps- und Parainfluenza 2-IgG und IgM-Antikörpern im IFl bei Patienten mit frischen Mumps- bzw. frischen Parainfluenza 2-Infektionen

(12/16) der 9 bis 13 Wochen nach Impfung entnommenen und in 45 % (5/11) bzw. 57 % (4/7) der 19 bis 21 Wochen nach Impfung entnommenen Seren nachgewiesen werden.

Die Frage des Boostereffektes auf präexistente Mumps-AK wurde ebenfalls untersucht. Von den insgesamt 120 Impflingen konnten alle Seren für HAH-AK und die Seren von 116 Impflingen für NT-AK ausgewertet werden. Von 43 Impflingen standen die Seren auch für den IF1-IgG-Test und die KBR zur Verfügung.

Bei 23 (20 %) bzw. 31 (26 %) der Impflinge im Alter zwischen 6 und 15 Jahren waren vor der Impfung NT- und HAH-AK in mittleren Titern von $2^{3,8}$ bzw. $2^{3,1}$ nachweisbar. Bei 13 (57 %) bzw. 17 (55 %) stiegen die NT- bzw. HAH-AK um 1 bis 3 Titerstufen an. Die mittleren Titer betrugen 6 bis 21 Wochen nach der Impfung $2^{4,7}$ bzw. $2^{3,8}$ (Tabelle 8).

Im IF1-IgG-Test bzw. der KBR waren bei 14/43 (33 %) und bei 9/43 (22%) prävakzinale AK im mittleren Titer von $2^{3,6}$ bzw. von $2^{2,4}$ vorhanden. Die IF1-IgG-AK stiegen bei 10 (71 %) der Seropositiven nach der Impfung auf ca. das Doppelte (GMT $2^{4,6}$) an. Die KBR-AK wurden dagegen durch die Impfung nicht gesteigert.

5.5.3 Untersuchungen über heterologe AK-Reaktionen für Parainfluenza 2 und Mumps nach Mumps- und Masernimpfung

Bei 13 für Mumps prävakzinal seronegativen Kindern, von denen 12 nach der Mumpsimpfung AK für Mumps besaßen, wurden die prä- und postvakzinalen Seren auch auf Parainfluenza 2-IgG- und IgM-AK im IF1 überprüft.

Von den 13 Kindern hatten insgesamt 3 Kinder (2,8 und 9 Jahre alt) IgG-AK für Parainfluenza 2, die durch die Impfung nicht anstiegen. IgM-AK für Parainfluenza 2 waren vor und nach der Impfung nicht nachweisbar.

Aus einer Masernimpfstudie (Kehl-Kork) wurden die prä- und postvakzinalen Seren von 7 Impflingen (im Alter von 3 bis 13 Jahren) mit Serokonversionen für Masern-AK im HAH auf AK-Titer für Mumps und Parainfluenza 2 im IF1-IgG- und IgM-Test untersucht. Alle 7 Kinder besaßen Mumps-IgG-AK und 2 der 7 Kinder auch Parainfluenza

Tabelle 7: Antikörperreaktion prävakzinal seronegativer Kinder auf Impfung mit monovalentem Mumps- und bivalentem Masern/Mumps-Lebendimpfstoff

Testart	Serokonversion		geometrische mittlere AK-Titer	
	Rate postvakzinal pos./prävakzinal neg.	%	2^{x}	N
NT	73/93	78,5	$2^{3,0\pm1,0}$	8x/:2
HAH	85/89	95,5	$2^{2,9\pm1,2}$	7,5x/:2,3
KBR	19/34	56	$2^{2,5\pm1,3}$	5,7x/:2,5
IF1-IgG	26/29	89,7	$2^{3,5\pm1,0}$	11,3x/:2
HIG	49/56	87,5	-	-
ELISA-IgG	21/21	1oo	$2^{8,1\pm1,7}$	274,4x/:3,2
IF1-IgM	17/29	59	$2^{2,9\pm1,1}$	7,5x/:2,1
ELISA-IgM	14/21	68	$2^{5,0\pm0,7}$	32x/:1,6

Tabelle 8: Antikörperreaktion prävakzinal seropositiver Kinder auf Impfung mit Mumps- und Masern/Mumps-Lebendimpfstoff

Testart	Impflinge		GMT		Titeranstiege um Titerstufen			in %
	prävakzinal pos./ gesamt	%	prävakzinal	postvakzinal	1	2	3	
NT	23/116	20	$2^{3,8\pm1,4}$ =13,9x/:2,6	$2^{4,7\pm1,2}$ =26x/:2,3	5	7	1	57
HAH	31/120	26	$2^{3,1\pm1,5}$ =8,6x/:2,8	$2^{3,8\pm1,5}$ =13,9x/:2,8	11	4	2	55
IF1-IgG	14/ 43	33	$2^{3,6\pm1,0}$ =11,8x/:2	$2^{4,6\pm1,5}$ =25x/:2,8	1	5	4	71
KBR	9/ 43	22	$2^{2,4\pm0,6}$ =5,3x/:1,5	$2^{2,4\pm0,6}$ =5,3x/:1,5	-	-	-	-

2 IgG-AK, deren Titer vor und nach der Masernimpfung gleich hoch waren (Mumps: 2^3 bis 2^5; GMT $2^{3,7}$; Parainfluenza 2: 2^5 und 2^6). IgM-AK für Mumps und Parainfluenza 2 konnten weder in den prä- noch in den postvakzinalen Seren nachgewiesen werden.

5.6 Mumpsdurchseuchung und Immunitätslage

5.6.1 Probandenseren

Von den 922 in der Durchseuchungsstudie untersuchten Seren stammen 712 Seren aus der Routinediagnostik der Virusabteilung und 210 Seren von 15 bis 20jährigen Mädchen aus einer Röteln-Impfstudie.

Die Seren aller 922 Probanden wurden im NT, von 723, 412, 83 und 39 auch im HAH bzw. IF1, ELISA und HIG-Test untersucht.

In Tabelle 9 sind die Altersgruppen, die Probandenzahlen und der Prozentsatz Seropositiver im NT, HAH und IF1 (IgG-AK) aufgeführt. Im NT und HAH wurden die Seren bis zum Reaktionsendpunkt austitriert und für jede Altersgruppe die mittleren Titer mit Standardabweichungen angegeben.
Für die Bestimmung der IF1-AK war dieses Verfahren zu aufwendig. Deshalb wurden die Seren nur bis zu der Verdünnung 1:32 geprüft. IF1-IgG-Titer von 4 und 8 wurden als positiv (+), Titer von 16,32 und $\geq$ 32 als stark positiv (++) bewertet.

5.6.2 Antikörperstatus im NT, HAH und IF1 (IgG)

In Abbildung 12 ist der Mumps-AK-Status für die verschiedenen Altersgruppen, wie er im NT, HAH und IF1 (IgG)-Test ermittelt wurde, vergleichend dargestellt.

Bei den 0 bis 3 Monate alten Neugeborenen konnten in 65 bis 70 % in allen 3 Testarten mütterliche AK gegen Mumps nachgewiesen werden. Im Alter von 4 bis 6 Monaten besaßen noch 7,3 % NT-, 29,5 % HAH- und 20 % IF1-AK. Im zweiten Lebenshalbjahr (7 bis 12 Monate) waren NT-, HAH- bzw. IF1-IgG-AK noch bei 7%, 31 % bzw. 10 % meßbar. Der Anteil der Seren mit

Tabelle 9: Antikörperstatus und mittlere Antikörpertiter im NT, HAH und IF1 (IgG) bei 922 Probanden verschiedener Altersgruppen

Alters-gruppen	NT			HAH			IF1 (IgG)	
	pos./getestet	% pos.	GMT	pos./getest.	% pos.	GMT	pos./getestet	% pos.
0-3 Monate	31/45	68,9	$2^{3,0\pm1,3}$ =8,0x/:2,5	21/30	70	$2^{2,3\pm0,6}$ =4,9x/:1,5	13/20	65
4-6 Monate	3/41	7,3	$2^{2,3\pm0,6}$ =4,9x/:1,5	13/44	29,5	$2^{2,0}$ =4	4/20	20
7-12 Monate	3/43	7,0	$2^{2,7\pm0,6}$ =6,4x/:1,5	14/45	31,1	$2^{2,5\pm1,1}$ =5,7x/:2,1	2/20	10
1-2 Jahre	11/44	25	$2^{4,0\pm1,3}$ =16x/:2,5	14/47	29,8	$2^{3,2\pm1,6}$ =9,2x/:3,0	5/21	23,8
3-4 Jahre	18/43	41,9	$2^{3,4\pm1,1}$ =10,5x/:2,1	23/42	54,8	$2^{3,4\pm1,3}$ =10,5x/:2,5	9/23	39,1
5-6 Jahre	36/50	72	$2^{4,2\pm1,0}$ =18,4x/:2,0	33/41	80,5	$2^{3,8\pm1,3}$ =13,9x/:2,5	17/24	70,8
7-10 Jahre	71/91	78	$2^{4,1\pm1,4}$ =17,1x/:2,6	58/73	79,5	$2^{3,5\pm1,2}$ =11,3x/:2,3	34/43	79,1
11-12 Jahre	33/42	78,6	$2^{3,6\pm1}$ =12,1x/:2	30/35	85,7	$2^{3,3\pm1,1}$ =9,8x/:2,1	26/30	86,7
13-14 Jahre	37/47	78,7	$2^{3,4\pm1,2}$ =10,6x/:2,3	32/38	84,2	$2^{3,1\pm1,2}$ =8,6x/:2,3	27/30	90
15-20 Jahre	235/290	81	$2^{3,8\pm1,3}$ =13,9x/:2,5	157/181	86,7	$2^{3,4\pm1,2}$ =10,6x/:2,3	54/60	90
21-26 Jahre	41/46	89,1	$2^{3,1\pm1,2}$ =8,6x/:2,3	29/35	82,9	$2^{2,6\pm0,7}$ =6,1x/:1,6	27/30	90
27-34 Jahre	38/43	88,4	$2^{3,4\pm1,2}$ =10,6x/:2,3	30/37	81,1	$2^{2,6\pm0,9}$ =6,1x/:1,9	27/30	90
> 35 Jahre	85/98	86,7	$2^{3,4\pm1,2}$ =10,6x/:2,3	60/75	80	$2^{2,8\pm0,9}$ =6,9x/:1,9	51/61	83,6

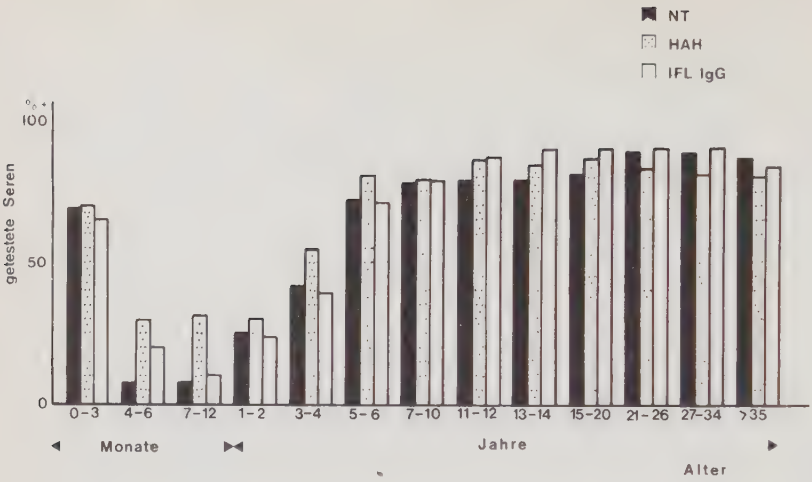


Abb. 12

Mumps-Antikörperstatus im NT (n=922), HAH (n=723) und IF1 (n=412) in verschiedenen Altersgruppen

Niederste Serumverdünnung: NT 1:4, HAH 1:4, IF1 1:4

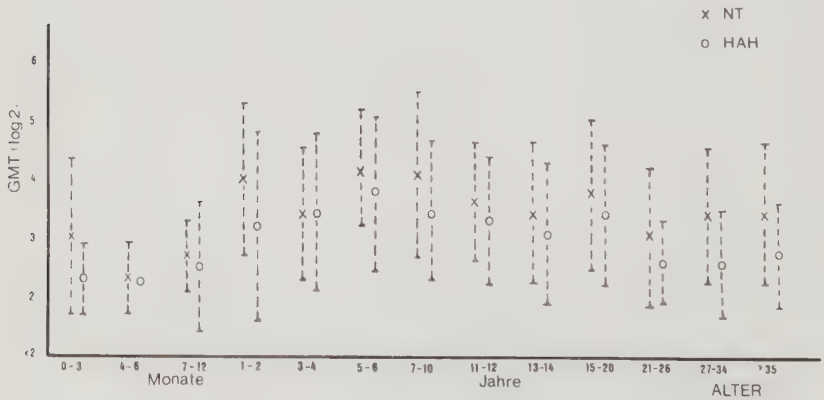


Abb. 13

Mittlere NT- und HAH-Mumpsantikörpertiter in verschiedenen Altersgruppen

Niederste Serumverdünnung: NT 1:4, HAH 1:4

HAH-AK war mit 31 % signifikant (X^2 ber. = 8,2; p=0,005;df=1) höher als in den anderen Testarten.
Die Mumps-Durchseuchung beginnt allmählich bei den 1 bis 2-jährigen mit NT-AK bei 25 %, HAH-AK bei 30 % und IF1-IgG-AK bei 24 %. Bei den 3 bis 4jährigen war die Seropositiv-Rate auf 42 % im NT, 55 % im HAH und 40 % im IF1 angestiegen.

Im Alter von 5 bis 6 Jahren konnten schon bei 70 % bis 80 % der getesteten Kinder in den 3 Testarten Mumps-AK nachgewiesen werden. Zwischen dem 7. und 14. Lebensjahr nimmt die im NT und HAH bestimmte Durchseuchung nur noch wenig zu und erreicht bei den 15 bis 20jährigen bzw. den 21 bis 26jährigen ihr Maximum.

Im IF1-IgG-Test war die höchste Durchseuchungsquote mit 90 % schon bei den 13 bis 14jährigen erreicht. Sie blieb konstant bis zum 34. Lebensjahr. Probanden jenseits des 35. Lebensjahres wiesen in 87 %, 80 % und 84 % NT-, HAH-und IF1-IgG-AK auf.

Die prozentualen Unterschiede der im NT, HAH und IF1 bestimmten Durchseuchungsraten sind für die Altersgruppen 4 bis 6 und 7 bis 12 Monate signifikant, während dies für die übrigen Altersgruppen nicht der Fall ist.

5.6.3 Antikörpertiter im NT und HAH

Die im NT und HAH gemessenen mittleren AK-Titer für die verschiedenen Altersgruppen sind mit ihren Streubereichen in Abbildung 13 dargestellt.

Es fällt auf, daß in fast allen Altersgruppen mit dem NT höhere mittlere Titer erzielt werden als mit dem HAH. So hatten die Neugeborenen (0 bis 3 Monate) mütterliche NT-Titer im Mittel von $2^{3,0}$ und HAH-Titer von $2^{2,3}$. Bei den 4 bis 6 Monate alten Kindern fielen die AK-Titer im NT auf $2^{2,3}$ und im HAH auf $2^{2,0}$ ab. Mit beginnender Durchseuchung während der ersten beiden Lebensjahre erreichte der mittlere NT-Titer mit $2^{4,0}$ ein 1. Maximum und der HAH-GMT stieg ebenfalls an ($2^{2,3}$). Zwischen dem 3. und 4. Lebensjahr waren die NT- und HAH-AK-Titer gleich hoch ($2^{3,4}$). In beiden

Testarten wurden im 5. und 6. Lebensjahr, dem Hauptdurchseuchungsalter für Mumps, Titermaxima für NT-AK mit $2^{4,2}$ und für HAH-AK mit $2^{3,8}$ festgestellt. Mit zunehmendem Lebensalter nahmen die AK-Titer im NT und HAH nur wenig ab. Für die 15- bis 20jährigen mit den höchsten Probandenzahlen (290 bzw. 181) wurden höhere mittlere AK im NT ($2^{3,8}$) und HAH ($2^{3,4}$) festgestellt als für die jüngere und ältere Altersgruppe. Bei den 27- bis 34jährigen und jenseits des 35. Lebensjahres betrugen die mittleren NT-Titer $2^{3,4}$ und die mittleren HAH-Titer $2^{2,6}$ bzw. $2^{2,8}$.

5.6.4 Antikörperstatus und Titerverteilung im IF1

Die im IF1-Test ermittelten Titerbereiche sind gesondert in Abbildung 14 zusammen mit dem AK-Status dargestellt, da ein Vergleich mit den mittleren NT- und HAH-AK in Abbildung 13 nicht möglich ist.

Von den seropositiven Neugeborenen (65 %) hatten 69 % AK im höheren ($\geq$ 16, ++) und 31 % im niederen (4-8, +) Titerbereich. Die Rate der Probanden mit höheren IF1-Titern fiel bei den 4 bis 6 Monate alten Kindern auf 25 % ab. Mit steigender Durchseuchung nahm der Prozentsatz der Probanden mit höheren Titern zu und erreichte bei den 3 bis 4jährigen 67 %.

Zwischen dem 5. und 20. Lebensjahr waren niedere und höhere Titerbereiche etwa gleich häufig. Bei den 21 bis 26jährigen überwogen mit 56 % die höheren Titerbereiche. Danach waren die AK bei 90 % bzw. 84 % der Seropositiven in 70 bis 80 % nur noch im niederen Titerbereich vorhanden.

5.6.5 Vergleich des IF1 und ELISA-Testes zur Feststellung früher durchgemachter Mumpsinfektionen.

In Tabelle 10 sind die im IF1 und ELISA erzielten IgG-AK-Befunde von 83 Probanden aus den verschiedenen Altersgruppen der Durchseuchungsstudie vergleichend dargestellt. Von den 17 im IF1 negativen Seren waren im ELISA 15 negativ und 2 positiv. Von den insgesamt 66 im IF1 positiven Seren waren nur 61 auch im ELISA positiv. Dabei hatten 4 der im ELISA negativen Seren

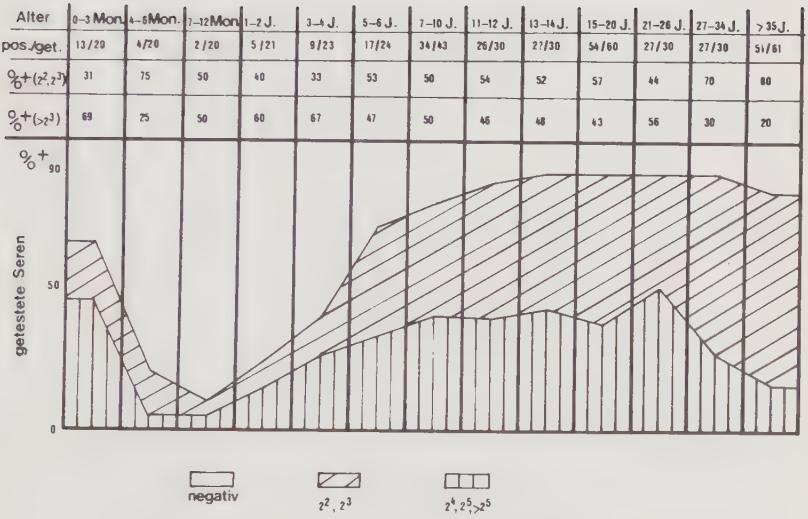


Abb. 14

Mumpsantikörperstatus und Titerbereiche im IF1 (IgG) in verschiedenen Altersgruppen (n=412)

Niederste Serumverdünnung 1:4

im IF1 nur Titer von 4 und 16. Bei den negativen Seren bestand Übereinstimmung in 88,2 %, bei den positiven Seren in 92,4 %.

Der Vergleich der mittleren Titer ergab, daß die Titer im ELISA 2 bis 16fach höher waren ($2^{7,4}$, $2^{8,7}$, $2^{8,0}$) als die mittleren IF1. Titer für die angegebenen Titerbereiche ($2^{2,8}$, $2^{4,5}$, $2^{6,7}$). Besonders bei den Seren mit niederen Titern von 4 bis 8 (GMT $2^{2,8}$) zeigte sich der ELISA mit $2^{7,4}$ viel empfindlicher als der IF1.

Wie aus Abbildung 15 hervorgeht, besteht für die im IF1 und ELISA ermittelten AK-Titer nach früherer Mumpsinfektion keine so gute lineare Abhängigkeit (r = 0,39) wie wir sie für AK nach frischer und kürzlicher Mumpsinfektion (r = 0,8) festgestellt hatten.

5.6.6 Vergleich der Durchseuchung mit Mumps und Parainfluenzavirus Typ 2 in verschiedenen Altersgruppen und Untersuchungen zum Problem der Kreuz- und Mitreaktionen

In Tabelle 11 sind die Mumps- sowie Parainfluenza 2-AK-Befunde von 40 Probanden aus der Durchseuchungsstudie im Alter von 1 bis 31 Jahren aufgeführt. Die AK wurden im IF1 sowohl für die IgG- als auch für die IgM-Klasse bestimmt. Bei keinem der Probanden waren IgM-AK nachweisbar. Damit konnten frische oder kürzliche Infektionen mit beiden Viren ausgeschlossen werden.

Keines der 13, 1 bis 2jährigen Kinder wies Mumps-IgG-AK auf, während 2 der Kinder bereits AK für Parainfluenza 2 im Titer von 2^6 besaßen.

Bei den 3 bis 5jährigen hatten 4 der 11 Kinder nur Mumps-AK im Titer von 2^3; Parainfluenza-2-AK fehlten. Bei 2 Kindern waren nur Parainfluenza-2-AK im Titer von 2^3 und 2^4 nachweisbar.

Im Alter von 6 bis 10 Jahren besaßen 4 von 7 Kindern Mumps-AK mit Titern von 2^3, 2^5 und 2^7, wobei 2 dieser Kinder auch gleichzeitig Parainfluenza-2-AK mit Titern von 2^4 und 2^8 aufwiesen. 2 Kinder hatten nur Parainfluenza 2-AK im Titer von 2^5 und 2^6.

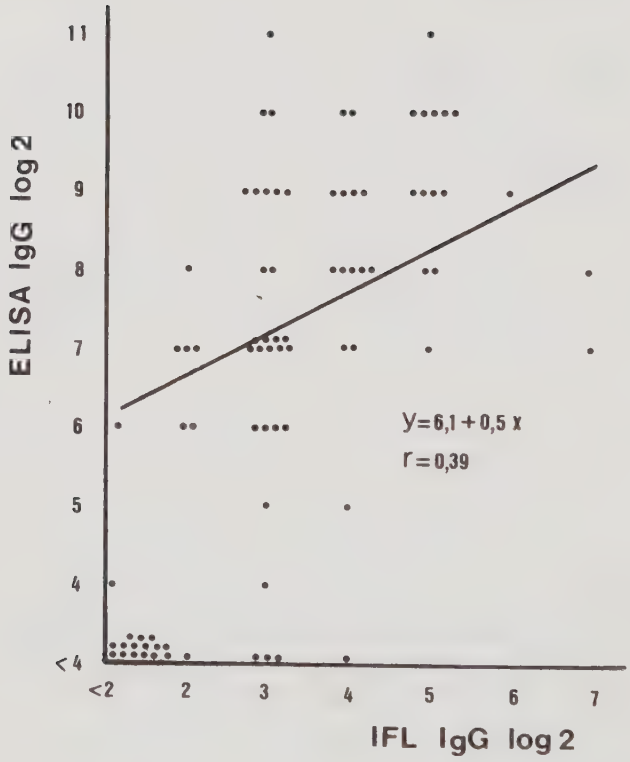


Abb. 15

Korrelation zwischen den im ELISA und IFl gemessenen IgG-Antikörpertitern in Seren von 83 Probanden nach früherer Mumpsinfektion.

Tabelle 10: Vergleich der IF1-und ELISA-IgG-Titer bei 83 Probanden aus der Durchsuchungsstudie

	IF1-IgG			ELISA-IgG			Übereinstimmung in %
	Titerbereich	Serenzahl	GMT	Anzahl negativ ($<2^4$)	Anzahl positiv ($\geq 2^4$)	GMT	
negativ	$< 2^2$	17	-	15	2	$2^{5,0\pm1,4}$	88,2
positiv	2^2-2^3	35	$2^{2,8\pm0,4}$	4	31	$2^{7,4\pm1,5}$	92,4
	2^4-2^5	28	$2^{4,5\pm0,5}$	1	27	$2^{8,7\pm1,3}$	
	2^6-2^7	3	$2^{6,7\pm0,6}$	-	3	$2^{8,0\pm1}$	

Alle 5, 11 bis 13jährigen Kinder wiesen sowohl Mumps- als auch Parainfluenza-2-AK mit mittleren Titern von $2^{4,0}$ bzw. $2^{5,6}$ auf.

Von den 4 Probanden im Alter von 25 bis 32 Jahren hatten 3 sowohl Mumps- (GMT: $2^{3,3}$) als auch Parainfluenza-2-AK (GMT:$2^{5,0}$), während 1 nur Parainfluenza-2-AK (Titer: 2^{4}) besaß.

Diese Ergebnisse zeigen, daß bei 30 der insgesamt 40 Probanden (75%), und zwar vorwiegend bei den 1 bis 5jährigen entweder Mumps- oder Parainfluenza-2-AK nachweisbar waren, oder keine AK gegen beide Viren. Bei 10 älteren Probanden (> 6 Jahre) waren Mumps- und Parainfluenza-2-IgG-AK gleichzeitig vorhanden. Dabei lagen die Titer der Parainfluenza-2-AK in jedem Fall höher als die der Mumps-AK.

Bei den relativ niedrigen Mumps-AK-Titern in den höheren Altersgruppen ist daher nicht klar, ob diese durch eine Mumps-oder Parainfluenza-Infektion bedingt sind. Aus diesem Grunde ist eine sichere Aussage über die Immunitätslage für Mumps, d.h. Schutz vor einer Mumpsinfektion, bei niederen und mittleren IF1-IgG-Titern - sowie in anderen Testarten - und gleichzeitigem Vorhandensein von Parainfluenza-AK nicht möglich.

5.7 Vergleich der Testarten zum Nachweis von Mumpsantikörpern bei den verschiedenen Probandengruppen

Um einen Gesamtüberblick über Spezifität und Empfindlichkeit der einzelnen Testarten zum Nachweis von Mumps-Antikörpern nach kürzlicher bzw. früherer Wildvirusinfektion sowie in Seren vor und nach Mumpsimpfung zu erhalten, wurden die serologischen Ergebnisse bei den verschiedenen Probandengruppen im Hinblick auf Antikörpernachweisbarkeit verglichen. Dabei ist für die Interpretation der Befunde zu berücksichtigen, daß in einigen der Testarten weniger bzw. ausgewählte Probandenseren untersucht wurden.

Wie aus Tabelle 12 ersichtlich, scheint der ELISA dem IF1 zum Nachweis frisch oder kürzlich durch Wildvirusinfektion erworbener IgG- und IgM-Antikörper in Bezug auf Empfindlichkeit überlegen zu

Tabelle 11: IgG-AK-Titer für Mumps und Parainfluenza 2 bei 40 gesunden Probanden im Alter von 1 bis 32 Jahren

Altersgruppe	Probanden	Mumps				Parainfluenza 2			
		Zahl neg. ($< 2^2$)	pos. ($\geq 2^2$)	%pos.	Titer	Zahl neg.($<2^2$)	pos.($\geq 2^2$)	%pos.	Titer
1-2 Jahre	13	13	-	0	-	11	2	15	2^6
3-5 Jahre	5	5	-	36	-	5	-	18	-
	4	-	4		2^3	4	-		-
	2	2	-		-	-	2		2^3, 2^4
6-1o Jahre	1	1	-	57	-	1	-	57	-
	2	-	2		2^3,2^7	-	2		2^4, 2^8
	2	-	2		2^5	2	-		-
	2	2	-		-	-	2		2^5, 2^6
11-13 Jahre	5	-	5	100	2^3-2^5	-	5	100	2^4-2^7
25-32 Jahre	3	-	3	75	2^2-2^4	-	3	75	2^5
	1	1	-		-	-	1		2^4

Tabelle 12: Vergleich der Testarten zum Nachweis von Mumps-Antikörpern bei den verschiedenen Probandengruppen

Probandengruppen		Zahl d. Seren getestet	KBR (1:8)	NT (1:4)	HAH (1:4)	HIG (Ø3,2 mm) a)	IF1 IgG (1:4)	IF1 IgM (1:8)	ELISA a) IgG (1:16)	ELISA a) IgM (1:16)
AK-Entwicklungs- und Verlaufsstudie		52 - 54o a)	89%	87%	89%	94%	94%	67%	98%	94%
Durchseuchungsstudie		39 - 922 a)	-	7o%	71%	7o%	72%	-	76%	-
Impfstudie	prävakz. b)	21 - 93	0%	2%	8%	2%	0%	-	4%	-
	postvakz. c)	21 - 93	57%	75%	84%	86%	89%	-	95%	-

a) kleine Probandengruppen (21-52)

b) prävakzinal % positiv der in mehr als der Hälfte aller Testarten prävakzinal negativen Seren

c) relative Serokonversion bezogen auf die in mehr als der Hälfte aller Testarten prävakzinal negativen Seren

sein. Mit dem HIG konnten Antikörper im gleichen Prozentsatz nachgewiesen werden wie im IF1 (94 %). NT und HAH mit Seropositiv-Raten von 87 % bzw. 89 % sind weniger empfindlich und der KBR mit 89 % in der Erfassung frischer Mumpsinfektionen nicht überlegen.

Bei der Feststellung der Immunitätslagen, d.h. länger zurückliegender Mumpsinfektionen, wurden mit dem ELISA und dem IF1 mit 76 % bzw. 73 % wiederum die höchsten Seropositiv-Raten erzielt. HIG, NT und HAH zeigten sich mit 70 % und 71 % etwas weniger empfindlich, wobei die Spezifität des HAH in den häufig auftretenden niederen Titerbereichen in Frage gestellt bleibt. Dies stellte sich bei einem Vergleich der niedrigtitrigen HAH-AK-Befunde mit den HIG- und NT-Ergebnissen heraus. So wiesen 23 % der im HIG und NT getesteten und übereinstimmend negativen Seren im HAH AK-Titer von 4 auf.

Für die Beurteilung der Testarten zum Nachweis des Impferfolges, d.h. echter Serokonversionsraten, ohne Berücksichtigung der durch Boosterreaktionen vorgetäuschten, wurden in der Tabelle für die prävakzinalen Seren der Prozentsatz der in den einzelnen Testarten Seropositiven, bezogen auf die Zahl der in mehr als 2 bis 3 Testarten seronegativen Probanden angegeben. Es sind also die Abweichungen der einzelnen Testarten prozentual aufgeführt.

Für die postvakzinalen Seren wurden ebenfalls die relativen Serokonversionsraten eingetragen, d.h. es wurden für jede Testart nur die Serokonversionsraten gewertet, bei denen die prävakzinalen Seren in mehr als 2 bis 3 der angewandten Testarten seronegativ waren.

Dabei zeigt sich, daß die prävakzinalen Seren Mumps-negativer Probanden im HAH in 8 %, im NT und HIG in 2 %, im ELISA in 4 % schwach positiv und nur im IF1 alle negativ sind. Dementsprechend scheint der IF1 in niederen Titerbereichen die höchste und der HAH die geringste Spezifität zu besitzen. In den postvakzinalen Seren ist die Seropositivrate im ELISA mit 95 % höher als im IF1 mit 89 %, im HIG mit 86 %, im NT mit 75 % und in der KBR mit 57 %. Demnach scheint der ELISA auch zur Erfassung des Impferfolges nach unseren Befunden am empfindlichsten zu sein.

6. DISKUSSION

Die Diagnose von Mumpsinfektionen und die Aussage über die Mumpsimmunitätslage und des Impferfolges ist aus den in der Einleitung dargelegten Gründen wünschenswert.
Dies ist wegen der Pathogenese der Mumpsinfektion mit ihren häufigen subklinischen Verläufen und den verschiedenartigen Krankheitssymptomen einerseits (Foy, 1971) und den durch andere Viren hervorgerufenen ähnlichen Krankheitsbildern (Brill, 1977) andererseits neben dem Nachweis des Mumpsvirus z.B. in Liquor und Rachenspülwasser nur durch Antikörperbestimmungen sicher möglich. Seit der Isolierung des Mumpsvirus im Brutei (Habel, 1945) und Gewebekulturen (Weller, 1948) und den dadurch verfügbaren Antigenen für serologische Teste wurden für solche Antikörperbestimmungen zunächst die KBR, der HAH und NT, später der IF1, seit kurzem der HIG und RIA und jetzt erstmals auch der ELISA (Ziegelmaier, in Druck) angewendet.

Von den in der Einleitung in Bezug auf Testprinzipien, Antigenart, Störfaktoren und Aussagefähigkeit beschriebenen Testarten wurden für die Diagnostik hauptsächlich die KBR, selten der IF1, für die Feststellung der Immunitätslage, bzw. altersabhängige Durchseuchung und Nachweis des Impferfolges, der HAH und NT, gelegentlich der HIG in verschiedenen Teilen der Welt, jedoch bisher kaum in der BRD eingesetzt.

6.1 Patienten-Antikörperverlaufsstudie

Zur Feststellung der Aussagefähigkeit der verschiedenen Testarten und dementsprechend für ihren gezielten Einsatz für Diagnostik- und Durchseuchungsstudien haben wir an einem Kollektiv von 211 Mumpspatienten die Antikörpertiterentwicklung und -persistenz vergleichend in den verschiedenen Testarten verfolgt. Wie aus der Literaturübersicht hervorgeht, gibt es bisher keine derartig umfangreichen Antikörperverlaufsstudien.

Aus unseren Ergebnissen (Abbildung 2 bis 10) ist zu entnehmen, daß in der KBR, mit den heute am häufigsten in den virusdiagnostischen Labors verwendeten käuflichen Mischantigenen nur bei Vorhan-

densein von 2 Blutproben, aus der akuten und Rekonvaleszentenphase, durch Nachweis eines signifikanten Titeranstieges um mehr als 2 Verdünnungsstufen mit einiger Sicherheit eine frische Mumpsinfektion diagnostiziert werden kann. Wir stellten fest, daß im 1. Blut aus der frühen Krankheitsphase (0 bis 7 Tage) nur bei 50 bis 80 % der Patienten KBR-AK von 1:4 bis 1:32 vorliegen, die in ihren mittleren Titern etwa denjenigen > 6 Monate bis 3 Jahre nach Mumpsinfektion entsprechen. Erst zwischen 9 und 15 Tagen nach Krankheitsbeginn sind bei allen Infizierten Mumps-KBR-Antikörper in höheren Titern (GMT: 44 bzw. 55) meßbar. So konnte bei Eintreffen eines 2. Blutes ± 15 Tage nach Krankheitsbeginn bei früher Entnahme des 1. Blutes anhand eines Titeranstieges zwischen 1. und 2. Blut im gleichen Testansatz die serologische Diagnose Mumps gestellt werden. Nachdem jedoch das 2. Blut in mehr als 60 % der Fälle nicht mehr eingesandt wird, da der Patient bereits entlassen ist, bleibt die Frage, ob es sich um eine durch Mumpsvirusinfektion bedingte Erkrankung gehandelt hat, in ca. 60 % offen. Dies besonders in denjenigen Fällen, bei denen im Blut aus den ersten Krankheitstagen noch keine KBR-Antikörper nachgewiesen werden konnten.

Wie Henle und Mitarb. (1948 a,b,c) schon in ihren früheren Arbeiten gezeigt haben, besteht die Möglichkeit, bei gleichzeitiger Verwendung des S- und V-Antigens in der KBR durch Nachweis der früher erscheinenden Anti-S-Antikörper im Einzelblut bei Fehlen der später auftretenden Anti-V-Antikörper den Anhalt für eine frische Mumpsinfektion zu gewinnen. Umgekehrt kann bei Nachweis von Anti-V-Antikörpern und Fehlen von Anti-S-Antikörpern, je nach Titerhöhe der Anti-V-Antikörper, auf eine kürzliche oder länger zurückliegende Mumpsinfektion geschlossen werden. Mit den von uns benutzten käuflichen S- und V-Antigenen konnten wir jedoch in Übereinstimmung mit Azimi (1969) keine derartig eindeutigen Ergebnisse erzielen. Wie unser Vergleich der KBR-Antikörperentwicklung und Titerverläufe mit 2 verschiedenen Misch- sowie dem S- und V-KBR-Antigen erkennen läßt (Abb. 4),war der Prozentsatz der Seropositiven am 2. Krankheitstag bei Verwendung des V-Antigens mit 70 % höher als bei Verwendung des S- und Mischantigens mit 40 %.

7 bis 15 bis 25 Tage nach Krankheitsbeginn stellten wir mit allen 3 KBR-Antigenarten etwa gleich hohe Seropositivraten von ca. 80 %, 90 % bzw. 100 % fest. Auch 1 bis 6 Monate und > 6 Monate bis 1 bis 2 Jahre nach Krankheitsbeginn betrug die Seropositiv-Rate mit dem S-Antigen noch immer ca. 90 % bzw. 70 % bzw. 40 %, während die Anti-V-Antikörper bei 100 % der früher Erkrankten nachweisbar waren und die Seropositivrate mit dem Mischantigen auf ca. 60 % abfiel. Auch die Betrachtung der mittleren Titer zeigte, daß in unseren Versuchen die Anti-S-AK zu keinem Zeitpunkt der AK-Verlaufsstudie höher waren als die Anti-V-AK. Nach unseren Ergebnissen kann demnach mit der KBR nur durch Nachweis eines signifikanten Titeranstieges eine serologische Mumpsdiagnose gestellt werden. Wegen des allmählichen Verschwindens der mit Mischantigen gemessenen KBR-AK ist diese Testart nicht für die Erfassung von länger als 6 Monate bis 1 Jahr zurückliegenden Infektionen geeignet. Dies gilt nicht in gleichem Maße für die gegen das KBR-V-Antigen gerichteten Antikörper, da, wie unsere Verlaufsstudie zeigt, das letztere Antigen ähnliche Antikörperqualitäten mißt wie der NT und HAH.

Die NT- und HAH-AK sind ab dem 1. bis 10. Krankheitstag bei 30 bis 40 % bzw. 90 % der Mumpspatienten und zwischen dem 11. und 30. Tag bei 100 % nachweisbar. Auch bei den vor 1 bis 3 Jahren mit Mumps infizierten Patienten unserer Studie können die NT- und HAH-AK in leicht abfallenden Titern (mehr als 6 Monate nach Infektionsbeginn) festgestellt werden.

Aus den AK-Verlaufsstudien anderer Autoren ist zu entnehmen, daß NT-AK, nicht aber HAH-AK in niedrigen Titern lebenslang nachweisbar bleiben (Gotlieb, 1953; Deinhardt, 1956; Ennis, 1968). Hierbei wurden NT-AK-Titer von 2 noch als Indikator für eine früher durchgemachte Infektion und dauerhafte Immunität bzw. Schutz vor weiterer Mumpserkrankung angesehen.

Für die Serodiagnose einer Mumpsinfektion mit dem NT und HAH müssen ebenfalls, wie für die KBR, 2 Blutproben aus einer früheren und einer späteren Krankheitsphase zur Verfügung stehen, um einen signifikanten Titeranstieg messen zu können. Die Titerhöhe in beiden

Testarten ist zu den verschiedenen Zeitpunkten gleichartig. Sie erreichen nach einem anfänglichen mittleren Titer von $2^{2,5}$ bis $2^{3,0}$ ihr Maximum mit einem GMT von $2^{5,7}$ bzw. $2^{5,8}$ zwischen dem 15. und 25. Krankheitstag, das auch noch für mehr als 1 bis 6 Monate erhalten bleibt. Zum Nachweis eines signifikanten Titeranstieges muß also die erste Blutprobe 1 bis ± 7 Tage und die zweite 9 bis 25 Tage nach Krankheitsbeginn entnommen werden. Bei späterer Entnahme der ersten Blutprobe kann nur ein gleichbleibend erhöhter Titer bis zu 6 Monaten festgestellt und damit der Verdacht auf eine kürzliche Infektion ausgesprochen werden. Nach unseren Ergebnissen erhält man mit der KBR unter gleichen Voraussetzungen die gleichen Informationen für die Diagnose einer frischen Infektion wie mit dem HAH und dem technisch und zeitlich aufwendigeren NT. Demnach kann für die Serodiagnostik auf die beiden letzteren Testarten zugunsten der KBR unter Verwendung qualitativ geprüfter käuflicher Antigene verzichtet werden.

Mit dem von uns für die Routinediagnostik gebrauchsfähig gemachten IF1 kann durch die Bestimmung der IgM-AK schon im 1. Blut aus der Frühphase der Erkrankung eine schnelle und sichere Diagnose auf Mumpsinfektion gestellt werden. Der Nachweis von IgM-Antikörpern wird im allgemeinen bei akut verlaufenden Virusinfektionen wie z.B. Röteln als Hinweis auf eine primäre, frische bzw. kürzliche Infektion bewertet (Brown, 1969; Iwakata, 1972; Enders, 1977).
Aus unserer Patienten-Antikörperverlaufsstudie geht hervor, daß am 2. bis 3. Krankheitstag bei 80 %, am 7. Tag bei ca. 95 % und zwischen dem 15. und 25. Tag bei 100 % der Patienten IgM-AK nachweisbar sind. Nach mehr als 1 bis 3 Monaten besaßen noch ca. 70 % unserer Patienten IgM-Antikörper, während mehr als 3 bis 8 Monate und mehr als 8 Monate bis 2 Jahre nur Ausnahmefälle, auf die später noch eingegangen wird, IgM-AK aufwiesen. Aus dem Antikörpertiterverlauf ist zu entnehmen, daß das Maximum der IgM-AK-Produktion ± 7 Tage nach Krankheitsbeginn erreicht ist. Danach sinken die IgM-AK-Titer ab und sind mehr als 1 bis 3 Monate nach Krankheitsbeginn in niederen Titern vorhanden, während sie nach mehr als 3 bis 8 Monaten an der Grenze der zuverlässigen

Nachweisbarkeit liegen.

Der Verlauf der IgG-AK entspricht für den geprüften Zeitraum dem der NT- und HAH-AK. Die IgG-Titer sind allerdings gleich nach Krankheitsbeginn höher. Das Titermaximum von $2^{8,6}$ (388) wird erst 1 bis 3 Monate nach Erkrankungsbeginn erreicht. Nach mehr als 8 Monaten bis 3 Jahren erfolgt der Titerabfall auf etwas niedrigere Werte von $2^{6,4}$ (87) bzw. $2^{5,2}$ (37), ebenso wie bei den NT- und HAH-Antikörpern.

Aufgrund der höheren AK-Titer im IF1 erscheint letzterer empfindlicher als der NT und HAH zum Nachweis von IgG-Antikörpern, jedoch wurden in den 3 Testarten die gleichen langfristig persistierenden Antikörperqualitäten gemessen. Dementsprechend sind alle 3 Testarten für die Feststellung früher durchgemachter Mumpsinfektionen geeignet. Für die Diagnose frischer Infektionen erscheint dagegen der Nachweis von IgM-AK die Methode der Wahl - unter der Voraussetzung, daß der IgM-Befund hinsichtlich der Methodik und im Hinblick auf die Kreuzreaktionen mit den Parainfluenzaviren für die Mumpsinfektion spezifisch ist. Unter den genannten Voraussetzungen kann man dann in einem Einzelblut, das ± 3 Tage bis 25 Tage nach Krankheitsbeginn entnommen wurde, innerhalb von 5 bis 6 Stunden eine zuverlässige Schnelldiagnose auf Mumps stellen. Eine ähnliche Bewertung erfuhr der IgM-IF1-Test auch durch Brown (1969). Dieser stellte in einer zahlenmäßig und zeitlich begrenzten Studie eine ähnliche Entwicklung sowie Titerhöhen und Persistenz der IgM-AK fest wie wir. Dagegen war der Prozentsatz der IF1-IgM-AK-Positiven mit 82 % in den ersten Krankheitstagen in der Studie von Bjorvatn (1974) niedriger.

Die erst kürzlich in der BRD bekannt gewordene HIG-Methode, die jedoch in den skandinavischen Ländern auch für die Feststellung der Influenza- und Röteln-Immunlage eingesetzt wird (Strannegård, 1975; Russell, 1975) wurde von uns wegen der Einfachheit des Verfahrens auf ihre Aussagefähigkeit in Bezug auf Diagnostik frischer und früher durchgemachter Infektionen ebenfalls geprüft. Nach unseren Ergebnissen kann dieser Test für die Diagnose frischer Infektionen unter den gleichen Voraussetzungen wie die KBR, der NT, HAH und IF1-IgG-Test eingesetzt

werden. Auch der Nachweis von IgM-AK ist prinzipiell möglich (Grillner, 1976). Eine quantitative Aussage kann nach unseren Ergebnissen zwar gemacht werden, jedoch läßt sich keine lineare Beziehung zwischen den Durchmessern der Hämolysehöfe und den KBR- bzw. IF1-IgG-Titern feststellen. Dies steht im Widerspruch zu den Ergebnissen von Väänänen (1976), der eine gute Korrelation zwischen den HIG-Durchmessern und den KBR-AK-Titern für Mumps gefunden hatte. Die jeweiligen technischen Voraussetzungen der einzelnen Laboratorien spielen eine Rolle bei der Wahl der Testmethode für die Routinediagnostik. In jedem Fall ist der HIG-Test nach unseren Befunden auch zum Nachweis früher durchgemachter Infektionen und damit zum Immunitätsnachweis geeignet.

Nach unseren Ergebnissen ist jedoch die Anwendung des für den Mumpsantikörpernachweis neuentwickelten ELISA von besonderem Interesse. Bei der im Blindversuch festgestellten guten Korrelation der im IF1 und ELISA gemessenen IgM- und IgG-AK sind im ELISA sowohl IgM- als auch IgG-AK-Titer sehr viel höher als mit der von uns als spezifische und bisher empfindlichste Testart ausgewiesenen IF1-Methode.

Bei Vergleich der IgM-AK-Entwicklung in beiden Testarten wird deutlich, daß im ELISA IgM-AK schon in den ersten 3 Tagen nach Krankheitsbeginn in 100 % der Patienten mit einem mittleren Titer von $2^{8,5}$ gegenüber 80 % im IF1 mit einem GMT von $2^{6,5}$ vorhanden sind. Danach können bis zum 25. Krankheitstag und nach mehr als 1 bis 5 Monaten in beiden Testarten in 100 % bzw. ca. 80 % der Mumpspatienten IgM-AK in mittleren Titern von $2^{10,3}$ und $2^{9,5}$ bzw. $2^{5,3}$ und $2^{5,0}$ festgestellt werden. Der Prozentsatz IgM-positiver Sonderfälle 7 Monate bis 2 Jahre nach Mumpsinfektion ist aufgrund der höheren Empfindlichkeit des ELISA höher als im IF1.

Für den Nachweis der IgG-AK in beiden Testarten gilt das Gleiche. Schon zwischen dem 3. und 7. Krankheitstag können bei allen Mumpspatienten AK nachgewiesen werden. Hierbei ist das Maximum der im ELISA gemessenen AK schon am 7. Tag mit einem GMT von 2^{12} erreicht, während die im IF1 gemessenen AK-Titer ihren Gipfel um den 25. Tag erreichen. Beide Antikörperarten sind für den Beobachtungszeitraum von 2 Jahren bei 100 % der früheren Mumpspatienten in nur wenig abfallenden Titern, besonders im ELISA, vorhanden.

Für die schnelle, verläßliche Serodiagnose einer frischen Mumpsinfektion ist somit der IgM-AK-Nachweis im ELISA genauso gut, wenn nicht noch besser geeignet als der IF1, besonders, wenn man den geringen Arbeitsaufwand mit vorpräparierten, antigenbeladenen Testplatten in Betracht zieht. Dagegen ist der ELISA-IgG-Test zur Erfassung eines signifikanten Titeranstieges sowie zur Diagnose einer frischen Mumpsinfektion an 2 Blutproben weniger gut geeignet als die KBR, der NT, der HAH oder der IF1. Auch die Frage, ob es sich um eine kürzliche Infektion handelt, ist wegen der ab 1 Monat bis 2 Jahre fast gleichbleibend hohen Titer kaum zu beurteilen. Für den Nachweis früher durchgemachter Infektionen dürfte jedoch der ELISA-IgG unter Voraussetzung seiner Spezifität, aufgrund seiner hohen Empfindlichkeit von allen geprüften Testarten am besten geeignet zu sein. Die hier vorgelegten Ergebnisse konnten inzwischen durch weitere vergleichende Untersuchungen im Blindversuch an einer größeren Zahl von Serumproben bestätigt werden (Enders, in Vorbereitung).

6.2 Individuelle Mumpsantikörperentwicklung und Titerverläufe

Zur Beurteilung von Laboratoriumsbefunden im Einzelfall ist die Kenntnis von Durchschnittswerten in den verschiedenen Testarten richtungsweisend. Es ist jedoch bekannt, daß bei Virusinfektionen die AK-Bildung in Bezug auf erste Nachweisbarkeit, Titerhöhe und Persistenz, vor allem der IgM-AK schon unter gleichen Voraussetzungen individuell variiert. Dies kann in Abhängigkeit von Alter, Schwere der Erkrankung, Komplikation sowie krankhafter bzw. therapiebedingter oder natürlicher Immunsuppression, wie z. B. bei Schwangerschaft noch ausgeprägter sein.

Deshalb verglichen wir die Antikörpertiterverläufe in den verschiedenen Testarten bei repräsentativen Einzelfällen aus unserem, das Gesamtspektrum aller klinischen und diagnostischen Mumpsprobleme umfassenden, Patientenkollektiv. Nicht untersucht werden konnten Titerverläufe bei subklinischen, d.h. asymptomatischen Infektionen, wie sie in 35 % bis 50 % vorkommen (Feldman, 1976).

Unsere Analyse von Einzelfällen mit klassischer Parotitis bei 2 Mädchen im Haupterkrankungsalter von 6 bis 7 Jahren und einer Frau im Alter von 44 Jahren ließ zwar individuelle Unterschiede im ersten Auftreten der verschiedenen Antikörper erkennen, jedoch waren die Antikörpertiterverläufe, besonders auch in Bezug auf die zeitlich begrenzte Nachweisbarkeit der IgM-AK für 0 bis 1 bis ± 3 Monate, gleichartig.
Dagegen stellten wir bei einem jungen Mann von 22 Jahren, bei dem die Parotitis, wie es bei 25 % von Mumpsinfektionen in geschlechtsreifem Alter der Fall ist (Philip, 1959), durch Orchitis kompliziert war, eine bis zu 1 1/2 Jahren verlängerte Persistenz der IgM-AK fest.

Bei 3 Kindern im Alter von 2, 9 und 11 Jahren mit Meningoenzephalitis bzw. Meningitis, die in zwei der Fälle ohne Parotitis verlief, wie es in 25 % bis 50 % vorkommen kann (Kilham, 1949; McLean, 1964), fiel auf, daß bei dem Patienten mit Parotitis und Meningitis die Antikörper in allen Testarten schon am 2. Krankheitstag in erhöhten Titern vorlagen. Dies war bei den Patienten mit ZNS-Komplikationen ohne Parotitis erst nach 8 bis 11 Tagen der Fall.

Im Gegensatz zu den unkomplizierten Mumpserkrankungen persistierten bei den Patienten mit ZNS-Komplikationen unabhängig vom Lebensalter die IgM-AK länger, d.h. soweit wir es verfolgen konnten, mehr als 3 Monate bis 10 Monate. In dem Sonderfall mit Parotitis und Meningitis bei einem 22jährigen Mann mit Hirntumor und therapiebedingter Immunsuppression war die anfängliche Antikörperentwicklung verzögert, jedoch die später erreichten Antikörpertiterhöhen nicht vermindert. Bei ihm konnten die IgM-Antikörper für mehr als 10 Monate, d.h. länger und in höheren Titern nachgewiesen werden als bei den sonst normalen Patienten mit ZNS-Komplikationen. Es ist naheliegend, die verlängerte IgM-AK-Produktion mit einer aufgrund der therapiebedingten Immunsuppression verlängerten Viruspersistenz in Zusammenhang zu bringen.

Die serologische Diagnose einer in der Schwangerschaft auftretenden Mumpsinfektion ist deshalb von Bedeutung, weil noch geklärt werden

muß, ob sie Folgen für das Kind haben kann. Darüber liegen widersprüchliche Angaben vor (Hook, 1949; Katz, 1967; Gilles, 1974; Monif, 1976). So wurden einerseits Endokardfibroelastosen bei Säuglingen in Zusammenhang mit einer mütterlichen Mumpsinfektion in der Frühschwangerschaft gebracht, da bei solchen Neugeborenen und in einer Studie bei älteren Kindern ein positiver Mumpshauttest festgestellt wurde (Noren, 1963; Katz, 1967). Humorale Antikörper, wie sie üblicherweise bei pränatal durchgemachten Infektionen in persistierender Form, wie z.B. bei Röteln (Enders, 1977), gefunden werden, fehlten dagegen. Dies wird als Hinweis aufgefaßt, daß möglicherweise die intrauterine Mumpsinfektion keine Antikörperproduktion bewirkt, sondern nur die zelluläre Immunität stimuliert (Aase, 1972). Wie man aber weiß, sind die durch Mumpsantigen ausgelösten Hautreaktionen nicht immer spezifisch, da einerseits die Antigenreinheit nicht gewährleistet ist und andererseits auch durch die schon im Säuglingsalter erworbenen Parainfluenza-AK aufgrund der Kreuzreaktion mit Mumps der Mumpshauttest falsch positiv ausfallen kann (St. Geme, 1975).
In anderen retrospektiven Studien konnten anhand klinischer Beobachtungen keine kongenitalen Mißbildungen bei Müttern mit Verdacht auf Mumpsinfektion in der Schwangerschaft festgestellt werden (Philip, 1959).
Ebenso ergaben sich in einer prospektiven Studie mit 19 serologisch gesicherten Mumpsinfektionen bei 493o schwangeren Frauen keine Hinweise auf kindliche Infektionen und fetale Schäden (Korones, 197o).

Auch aus der in der BRD durchgeführten DFG-Schwerpunktsstudie über Schwangerschaftsverlauf und Kindesentwicklung, in der mehr als 5000 schwangere Frauen ab Ende des 1. Trimenons u.a. serologisch durch KBR-Titerbestimmungen auch auf frische Mumpsinfektionen überwacht wurden, ließ sich kein diesbezüglicher Anhalt gewinnen.

Insgesamt gesehen kann die noch offene und wichtige Frage, ob und zu welchem Zeitpunkt mütterliche Mumpsinfektionen in der Schwangerschaft zu kindlichen Schäden führen können, nur mit Hilfe einer spezifischen serologischen und virologischen Diagnostik durch Untersuchungen bei Mutterund Kind beantwortet werden.

Von den insgesamt ca. 20 serologisch bei uns untersuchten schwangeren Frauen mit Verdacht auf Mumpsvirus-bedingte Parotitis konnten wir bei 4 die Antikörpertiterverläufe in verschiedenen Testarten während - bzw. bei einer Frau auch bis 1 1/2 Jahre nach - der Schwangerschaft, jedoch nur in einem Fall auch kindliche Blutproben auf Antikörper prüfen.

Bei 3 der 4 eingehend untersuchten schwangeren Frauen konnten wir bei Einsatz mehrerer Testarten durch signifikante Titeranstiege in der KBR, im NT, im HAH, im IF1-IgG und durch Nachweis von spezifischen IgM-AK im IF1 und/oder ELISA eine durch Mumpsvirusinfektion bedingte Parotitis mit Sicherheit diagnostizieren. Die Antikörperentwicklung, obwohl sie besonders für die in der KBR gemessenen AK etwas verzögert war, entsprach in den Titerhöhen - trotz der in der Schwangerschaft vorliegenden natürlichen Immunsuppression sowie der Gammaglobulingabe - weitgehend den in der Patienten-Antikörperverlaufsstudie festgestellten Durchschnittswerten, während die IgM-AK eine Tendenz zur längeren Persistenz zeigten.
Von den Frauen mit frischer Mumpsinfektion in Mens 2, Mens 8 und kurz vor der Entbindung wurden gesunde Kinder geboren, wobei im letzteren Fall weder im Nabelschnur- noch im kindlichen Blut vom 7. Lebenstag Antikörper nachgewiesen werden konnten. Demnach muß angenommen werden, daß das Virus weder kurz vor oder bei der Geburt noch durch die Muttermilch (Kilham, 1951) auf das Kind übertragen wurde, und daß zum Zeitpunkt der Entbindung mütterliche AK der IgG-Klasse noch nicht gebildet bzw. falls vorhanden, nicht auf das Kind übergegangen sind.
Bei der 4. Graviden mit klinischer Parotitis und Gammaglobulingabe in Mens 2 und signifikanten Titeranstiegen im HAH, IF1-IgG und ELISA-IgG, konnte aufgrund der fehlenden IgM-AK für Mumps und der niedrigen IF1-IgM-AK im 1. Blut bei gleichbleibend erhöhtem IF1-IgG-AK-Titer für Parainfluenza 2 nicht entschieden werden, ob eine der selten dokumentierten Reinfektionen mit Mumpsvirus (Krugman, 1973) oder eine frische Parainfluenza 2-Infektion mit Auffrischeffekt für die Mumps-IgG-Titer vorlag.

Dies, zumal bekannt ist, daß die klinischen Parainfluenzainfektionen mit Typ 2 in der Mehrzahl der Fälle zwar Respirationstraktsymptome verschiedener Schwere hervorrufen, jedoch auch Parotitiden verursachen können (Bloom, 1961; Zollar, 1970). Umgekehrt sind auch Fälle bekannt, in denen das Mumpsvirus von Patienten mit Erkrankungen der unteren Luftwege - bei zuweilen fehlender Parotitis isoliert wurde (Foy, 1971). Dies unterstreicht die Wichtigkeit eines monospezifischen Antikörpernachweises bei Paramyxoviren für eine ätiologische Diagnose.

6.3 Homologe und heterologe Antikörperreaktionen für Mumps bzw. Parainfluenza

Das Problem der ausgedehnten serologischen Kreuzreaktionen zwischen Mumps und den übrigen Parainfluenzavirustypen als Störfaktor für eine spezifische Serodiagnose von Mumps- und Parainfluenzainfektionen wurde schon mehrfach beschrieben (Lennette, 1963). Dabei ist nicht bekannt, welches dieser Parainfluenzaviren das breitere Antigenspektrum, d.h. die größere Fähigkeit zur Induktion heterologer Antikörper besitzt.

Die Beobachtungen, daß die mit Parainfluenzaviren experimentell infizierten Tiere serologisch spezifisch reagieren (Chanock, 1956; De Meio, 1957; Cook, 1959) und daß die heterologen Kreuzreaktionen für Parainfluenzaviren beim Menschen mit zunehmendem Lebensalter ansteigen (Lennette, 1963), weisen darauf hin, daß die heterotypischen Reaktionen nur dann auftreten, wenn frühere Infektionen mit Viren dieser Gruppe durchgemacht wurden. Solche heterotypischen anamnestischen Reaktionen sind auch bei Infektionen und Impfung mit den 3 Poliovirustypen und besonders für Infektionen mit dem Coxsackie- aber auch Echovirus bekannt (Paul, 1956; Lennette, 1961). Dabei sind die heterologen Reaktionen für Polio vorwiegend in der KBR, die für Coxsackie und Echo sowohl in der KBR als auch im Neutraltest nachweisbar (G. Enders-Ruckle, unveröffentlicht).

Wie klinische und serologische Studien zeigen, beginnt die Infektion mit den in hoher Konzentration ausgeschiedenen und deshalb sehr kontagiösen Parainfluenzaviren (Jackson, 1973; Glezen, 1976) für Typ 3 schon kurz nach der Geburt und mit Typ 1 und 2 ab dem 4. Lebensmonat (Chanock, 1965; Glezen, 1971; Glezen, 1973).

Bis zum 5. Lebensjahr weisen 90 - 100 % aller in amerikanischen Studien geprüften Kinder Antikörper für Parainfluenza Typ 3 und 74 % bzw. 59 % der Kinder über 5 Jahre für Typ 1 und 2 auf (Parrott, 1962; Brown, 1966; Monto, 1968; Hall, 1971). Ähnliche Durchseuchungsfrequenzen wurden in serologischen Studien in verschiedenen Teilen der Welt ermittelt, während aus der BRD bisher keine Literatur über solche aufschlußreichen serologischen Studien vorliegt. Die Durchseuchung mit Parainfluenzaviren ist demnach praktisch abgeschlossen, wenn das Haupterkrankungsalter mit Mumps beginnt. Doch finden mit den Parainfluenzaviren auch häufig Reinfektionen statt, (Tyrell, 1959; Chanock, 1963) da die Immunität weniger solide ist wie nach Mumpsinfektion und vorwiegend auf lokalen Antikörpern im Respirationstrakt beruht (Glezen, 1976). Mit zunehmendem Alter treten aber nur noch geringe Symptome auf.

Unsere auf Mumps- und Parainfluenza 2-Virus beschränkten Untersuchungen für homologe und heterologe Seroreaktionen zeigen, daß bei 17 der 18 Patienten im Alter von 4 bis 74 Jahren mit serologisch gesicherten Mumpsinfektionen schon im 1. Blut auch Parainfluenza 2-Antikörper im IFl und - soweit bestimmt - auch in der KBR meist in erhöhten Titern nachweisbar waren. In einigen Fällen wurden zwischen 1. und 2. Blut mehr oder weniger signifikante Titeranstiege festgestellt. Die erreichten Titerhöhen für Mumps-IgG und Parainfluenza-IgG-Antikörper wie auch für KBR-Antikörper waren annähernd gleich, so daß sich daraus kein Rückschluß auf das die Infektion verursachende Virus ergab.

Für Mumps konnten jedoch in allen Fällen signifikante IgM-AK-Titer nachgewiesen werden, während diese bis auf 2 Ausnahmefälle für die Parainfluenza 2-Viren fehlten. Dies spricht dafür, daß die präexistenten Parainfluenza 2-Antikörper der IgG-Klasse durch die pri-

märe Mumpsinfektion regelmäßig aufgefrischt werden, während IgM-Antikörper nur in Ausnahmefällen und in flüchtigen niedrigen Titern aufzutreten scheinen, wie z.B. bei den schwangeren Patientinnen (Nr. X und Nr. XI). Daß ohne frühere Parainfluenzainfektion solche Mitreaktionen bei frischen Mumpsinfektionen fehlen, zeigt die monospezifische Antikörperreaktion des 4jährigen Kindes, das als einziges der 18 Mumpspatienten in unserer Studie noch keine prä-existenten Parainfluenza 2-Virus-Antikörper besaß.

Als Beweis, daß nur die Bestimmung der spezifischen IgM-Antikörper eine exakte serologische Diagnose von mumps- oder parainfluenzavirus-bedingten Infektionen bei älteren Kindern und Erwachsenen erlaubt, dienen unsere Befunde bei 4 Patienten im Alter von 6 bis 74 Jahren, die fieberhafte Erkrankungen der oberen und unteren Luftwege zum Teil mit Exanthem hatten. Bei diesen 4 Patienten fanden wir (Tabelle 6) hohe oder ansteigende KBR und IgG-IFl-Titer für Parainfluenza 2 und Mumps, jedoch IgM-Antikörper nur für das Parainfluenza 2-Virus. Bei der 5. Patientin mit Parotitis in der 8. Schwangerschaftswoche, die schwach positive IgM-Titer für Parainfluenza 2-Virus, dagegen keine für Mumps aufwies, konnte trotz signifikanter Titeranstiege der Mumps-IgG-Antikörper die Ätiologie der Infektion nicht geklärt werden.

6.4 Mumpsantikörperentwicklung nach Impfung mit monovalentem (M-Vax), bivalentem Masern-Mumps (M-M -Vax) und trivalentem Masern-Mumps-Röteln-(M-M-R)-Lebendimpfstoff.

Die Beurteilung der Wirksamkeit einer Impfung erfolgt zunächst durch Nachweis der Antikörperbildung, d.h. der Konversionsrate nach Impfung und später durch Beobachtung des Schutzeffektes, d.h. das Ausbleiben einer Erkrankung nach Kontakt mit Wildvirus. Beide Kriterien sind zur Feststellung des Impferfolges für Mumps, Masern und Röteln unterschiedlich schwierig.

Während die Antikörperbildung 4 bis 8 Wochen nach Masern- und Röteln-Lebendimpfung im HAH oder NT gut meßbar ist, sind die Antikörperspiegel nach Mumpsimpfung so niedrig, daß sie bisher spezifisch nur im empfindlichen NT in geringen Titern feststellbar sind. In Bezug auf den Schutzeffekt ist die Masernimpfung sehr viel höherer Kritik ausgesetzt, da bei Impfversagern sich die spätere Wildvirusinfektion in nahezu 100 % klinisch manifestiert, während bei Mumps und auch bei Röteln 30 - 50 % der späteren Wildvirusinfektion subklinisch oder atypisch verlaufen und deshalb nicht als Mumps oder Röteln diagnostiziert werden.

Nach den in USA seit 1965 in 22 klinischen Prüfungen bei 4400 seronegativen Probanden durchgeführten Antikörperbestimmungen betrug die Konversionsrate 4 bis 8 Wochen nach Impfung 95 % (Mitteilung der Behring-Werke, 1978). Hierbei gelten alle Impflinge als erfolgreich geimpft, bei denen neutralisierende Antikörper im unverdünnten Serum (Weibel 1967, 1970, 1971, 1972, 1973, 1975, 1978; Stokes, 1971) oder in Serumverdünnungen von 1:2 (Stokes, 1967; Borgono, 1973; Schwarz, 1975; Shina, 1975) nachweisbar waren. Hierbei muß berücksichtigt werden, daß die Antikörperbestimmungen für die Mehrzahl der Studien von Weibel u. Mitarb. (1967, 1970, 1972, 1973) im NT-Makro-Hühnerembryofibroblasten-Röhrchentest oder vereinzelt im Mikroplaque-Test mit Titerbewertung anhand der Plaquereduktion (Schwarz, 1975) durchgeführt wurden.

In unseren Impfstudien konnten wir mit dem Mikro-NT mit Serumanfangsverdünnungen von 1:4 nur eine Konversionsrate von 78,5 % mit mittleren Titern von $2^{3,0}$ (1:8) feststellen. Auch Luthardt u. Mitarb. (1977) sowie Sarateanu u. Mitarb. (1978) erzielten bei 1o4 bzw. 31 prävakzinal seronegativen Kindern mit den gleichen Impfstoffen und der von uns verwendeten Mikro-NT-Technik bei Serumanfangsverdünnungen von 1:4 bzw. 1:2 ebenfalls eine Konversionsrate von 80 % bzw. 76-81 %. Die mittleren Titer betrugen bei Sarateanu u. Mitarb. 1:5,8 bis 1:75.

Nach unseren Voruntersuchungen liegt diese Diskrepanz darin begründet, daß mit den in den US-Studien verwendeten Makro-Hühnerembryofibroblasten-Röhrchen-NT höhere Titer erzielt werden können und auch zytotoxische Seren in niedrigen Verdünnungen verwertbare Resultate liefern.

Auch der Plaque-Reduktionstest ergibt aufgrund prozentualer Titerbewertung höhere Titer und damit auch höhere Konversionsraten.

Für größere Mumpsimpfstudien ist jedoch in der Praxis einerseits der US-Makro-Hühnerembryofibroblasten-Röhrchen-Test zu aufwendig und umständlich und unser Mikro-NT, der erst ab Serumverdünnungen von 1:4, besser noch ab 1:8, sicher reproduzierbare Testergebnisse liefert, zu unempfindlich.

Die Serokonversionsrate im HAH betrug in unserer Studie 95,5 % mit einem mittleren Titer von $2^{2,9}$. Diese hohe Rate muß kritisch bewertet werden, da es Hinweise gibt, daß auch bei der nach unseren Vorversuchen am besten geeigneten Kaolinbehandlung zur Entfernung von HAH-Inhibitoren noch restliche unspezifische Inhibitoren vorhanden sein können, die dann einen geringen HAH-Titer von 1:4 und 1:8 vortäuschen.

So fanden wir auch in unseren Durchseuchungsstudien bei 1 bis 2jährigen Kindern gelegentlich schwach positive HAH-Titer bei negativen Befunden im NT und IF1. Sarateanu u. Mitarb. (1978)

ermittelten im HAH unter Verwendung der Kaolinadsorption der Seren und des Tweenäther-Spaltproduktes als Antigen mit 71 % bis 75 % eine niedrigere Konversionsrate als im NT mit 75 bis 82 %. Ähnliche Befunde wurden auch von Schell (1975) erhoben.

Andererseits fand Sarateanu (1978) entsprechend unseren Befunden bei der Feststellung der prävakzinalen Mumpsimmunität mit dem HAH höhere Seropositivraten von 66,1 % bis 73,3 % als im NT von 33,8 % bis 45 %. Stehr und Mitarbeiter (1975) stellten mit der auch von uns benutzten HAH-Methode (persönliche Mitteilung, Frau Dr. Epp) eine Serokonversionsrate nach Impfung von 88 % mit mittleren Titern von $2^{4,2}$ fest.
In den US-Impfstudien wurde mit dem HAH nach der Impfung ein GMT von 2^{2} bis 2^{3} festgestellt(Buynak, 1967), der wie in unserer Studie niedriger war als der GMT der NT-Ergebnisse. Diese Befunde zeigen, daß der HAH dem NT zur Feststellung des Impferfolges und derImmunität vor allem in Bezug auf Spezifität unterlegen ist. (Luzyanina, 1965; Buynak, 1967; Stokes, 1967; Sugg, 1968; Sarateanu, 1978).

Im Vergleich zu unserer im NT ermittelten Konversionsrate von 78,5 % betrug sie im IF1 90 % mit mittleren Titern von $2^{3,5\pm1,0}$. Dies entspricht den Ergebnissen von Luthard (1977), der im NT bzw. IF1 Konversionsraten von 80 % bzw. 91 % ermitteln konnte. Auch andere Untersucher fanden in früheren Studien zur Kontrolle des Impferfolges IF1-Teste verschiedener Art ebenso gut oder besser geeignet als den NT (Cerini, 1968; Brown, 1969).

Auch der technisch einfache HIG-Test, mit dem wir eine Konversionsrate von 88 % erzielten, scheint unserem Mikro-NT überlegen zu sein, während eine endgültige Bewertung des HIG im Vergleich zum IF1 wegen der kleinen Zahl direkt verglichener Seren noch nicht möglich ist.

Der ELISA mit makroskopischer Ablesung ist nach unseren vorläufigen Ergebnissen aufgrund seiner hohen Empfindlichkeit bei ausreichender, aber nicht so guter Spezifität wie mit dem IF1, zum

Nachweis der Antikörperentwicklung nach Mumpsimpfung von den von uns erprobten Testarten am besten geeignet. Die Serokonversion betrug bei 21 prävakzinal seronegativen Kindern aus unserer Impfstudie 100 %, wobei bei 2 dieser Probanden sowohl im NT als auch im IF1 keine Antikörperentwicklung festgestellt werden konnte, während AK im HAH nachweisbar waren.
Der mittlere, postvakzinale Titer war mit $2^{8,1 \pm 1,7}$ um das 32fache höher als die im HAH, NT und IF1 gemessenen Titer . Bei Bestätigung dieser Ergebnisse an größeren Impflingszahlen ist der ELISA neben dem IF1 zur serologischen Erfassung des Mumpsimpferfolges die Methode der Wahl.

Die Frage, ob nach Mumpsimpfung regelmäßig alle Probanden IgM-Antikörper entwickeln, bzw. in welchem Zeitraum nach Impfung diese nachweisbar sind, wurde bisher nicht untersucht. Aus der einzigen diesbezüglichen Veröffentlichung - ohne Angabe über den Zeitpunkt der Entnahme der postvakzinalen Seren - geht hervor, daß im indirekten IF1 bei allen 6 geprüften Impflingen IgM-Antikörper nachweisbar waren (Brown, 1969). Auch von uns kann diese Frage noch nicht eindeutig beantwortet werden, da unsere postvakzinalen Seren erst relativ spät, d.h. 9 bis 21 Wochen nach Impfung, entnommen wurden.
Insgesamt betrug die IgM-Nachweisrate in diesen Seren im IF1 60 % (19/32) und im ELISA 70 % (16/23).
Nach unseren Erfahrungen erscheint auch zum Nachweis von spezifischen IgM-Antikörpern nach Mumpsimpfung der ELISA der empfindlichste Test zu sein.

Analog anderen Beobachtungen (Hilleman, 1967; Weibel, 1967; Luthard, 1977; Sarateanu, 1978) bewirkte die Mumpslebendimpfung auch in unserer Studie bei mehr als 50 % der prävakzinal mumps-seropositiven Impflinge (23) unabhängig vom Ausgangstiter eine Titersteigerung. Der größte Boostereffekt auf das Doppelte des Ausgangstiters wurde im NT und IF1 gemessen, während die mittleren HAH- und ELISA-Antikörpertiter durch die Impfung nur um etwa 1/2 Titerstufe angehoben wurden.

Es bleibt noch zu prüfen, ob die Auffrischung mit, oder - wie aufgrund der Erfahrungen bei Masern- und Röteln-Impf-Auffrischreaktionen (Enders-Ruckle, unveröffentlicht) zu erwarten ist - ohne IgM-Antikörperbildung verläuft.

Unsere Untersuchungen zur Feststellung etwaiger heterologer Antikörperreaktionen bei Mumpsimpfung für die kreuzreagierenden Parainfluenzaviren und für das ebenfalls zu dieser Gruppe gehörende, jedoch antigenetisch eigenständige Masernvirus, bzw. bei Masernimpfung für die Mumps- und Parainfluenzaviren, ergaben den Hinweis, daß beide Lebendimpfungen nur monospezifische Immunantworten auslösen.
Dies ist im Hinblick auf die exakte Erfassung des jeweiligen serologischen Impferfolges von praktischem Interesse. So war nach Mumpsimpfung bei keinem derImpflinge ohne oder mit präexistenten Parainfluenza 2 -Antikörpern eine Serokonversion oder Auffrischung der Parainfluenzavirus 2-Antikörper zu beobachten. Dies, im Gegensatz zu der natürlichen Mumpsinfektion, die relativ häufig Auffrischeffekte präexistenter Parainfluenzavirus-Antikörper verursacht bzw. umgekehrt. Möglicherweise ist der hohe Attenuierungsgrad des Jeryl Lynn-Lebendvirusimpfstammes für das Ausbleiben des Boostereffektes auf heterologe Antikörper verantwortlich. Bei Verwendung inaktivierter Mumpsvakzinen kommen dagegen sowohl Serokonversionen als auch Boosterreaktionen, die in der KBR bei jungen Rekruten nachgewiesen wurden, z.B. für das Parainfluenzavirus zustande (Penttinen, 1967). Auch nach der Masernlebendimpfung stellten wir nur eine monospezifische Masernantikörperentwicklung fest, d.h. wir fanden weder Serokonversionen noch Titersteigerungen für Mumps- oder Parainfluenza 2-Antikörper.

6.5 Mumpsdurchseuchung und Immunitätslage

Die Mumpsdurchseuchung läßt sich auch bei Mumpsmeldepflicht wegen des hohen Prozentsatzes subklinisch verlaufender Infektionen nur aus serologischen Stichprobenuntersuchungen in verschiedenen Altersstufen entnehmen.
Die vorliegenden serologischen Durchseuchungsstudien vermitteln kein vollständiges Bild, weil weltweit die bisher als empfindlichst geltende Seroreaktion, der Neutralisationstest, nur in kleinen Studien zur Anwendung gekommen ist und die Mehrzahl der repräsentativeren Studien mit der KBR oder dem HAH durchgeführt wurde (Vivell, 1954; Black, 1964; Schmidt, 1972; Stelzner, 1972). So schwanken z.B. in den USA-Studien die Angaben für die Durchseuchung Erwachsener zwischen 52 und 88 % (Liao, 1954; Black, 1967; Niederman, 1967; Brickman, 1972).
Für die BRD liegen insbesondere nur Untersuchungen über das Vorkommen von KBR- und HAH-Antikörpern in einzelnen Altersgruppen vor (Vivell, 1954; Berger, 1973; Doerr, 1977).
Mit den von uns benutzten 3 Testarten NT, HAH und IF1 und den für kleinere Zahlen von Serumproben benutzten HIG und ELISA wurden im Prinzip gleichartige Informationen über den Immunstatus der 922 getesteten Probanden aus 13 verschiedenen Altersgruppen gewonnen. Diskrepanzen in Bezug auf höhere Raten mütterlicher Antikörper oder Durchseuchungsquoten im HAH sind auf die bereits erwähnte gewisse Unspezifität der niederen Antikörpertiter im HAH zurückzuführen. Deshalb stützen sich bei Diskrepanzen in den 3 Testarten unsere Aussagen über die Mumpsdurchseuchung in der BRD insbesondere auf den IF1, da auch der von uns verwendete NT sich als weniger empfindlich als der IF1 und als der in den USA gebräuchliche NT erwies.
Nach unseren Untersuchungen besitzen im IF1 bzw. NT 65 bis 69 % der 1 bis 3 Monate alten Kinder mütterliche Antikörper, die zwischen dem 4. und 6. Lebensmonat weitgehend verschwinden, so daß zwischen dem 7. und 12. Lebensmonat die Positiv -Rate nur noch 7 bis 10 % beträgt. Bei Erreichen des 14. Lebensjahres sind 90 % der Kinder Antikörper-Träger und haben demnach eine Mumpsinfektion durchgemacht. Zwischen dem 15. und 34. Lebensjahr

sind weiterhin 90 % für Mumps seropositiv und erst ab dem 35. Lebensjahr besitzen nur noch 84 bis 87 % der Probanden im IF1 oder NT nachweisbare Mumps-Antikörper. Es besteht jedoch der Hinweis, daß bei Anwendung des empfindlichen ELISA-Testes die Seropositivrate in den beiden letztgenannten Altersgruppen 93 % bzw. 90 % beträgt (Enders, in Vorbereitung).

Ähnliche Seropositivraten im Erwachsenenalter wurden in zwei mit dem NT in den USA durchgeführten Durchseuchungsstudien festgestellt (Kenny, 1975; St. Geme, 1975). Beide Autoren fanden bei 17 bis 20 bzw. 20 bis 25jährigen Probanden im NT eine höhere Durchseuchung von 93 bzw. 95 % als wir mit 90 %. Diese Diskrepanz ist wohl darauf zurückzuführen, daß diese Autoren die Neutralisationsteste mit konzentriertem Serum oder Serumausgangsverdünnungen von 1:2 durchführten, während wir Serumausgangsverdünnungen von 1:4 im NT und im IF1 benutzten.
Besonders aufschlußreich sind jedoch drei unabhängig voneinander in der KBR bzw. im NT durchgeführte Infektionsratenbestimmungen bei Mumpsepidemien in "virgin soil"-Gebieten. Von keiner der isoliert lebenden Bevölkerungsgruppen wurden mehr als 90 % mit Mumps infiziert (Philip, 1959; Reed, 1967; Maynard, 1970). Diese Zahl deckt sich gut mit den von uns im NT und IF1 gefundenen Durchseuchungsraten.
Dagegen wurde in den infektionskinetischen Analysen von Berger (1973) anhand von Mumps-KBR-Befunden schwangerer Frauen aus der prospektiven Untersuchungsstudie eine 100 % Durchseuchung mit dem Mumps-Virus ab dem 15. bis zum 20. Lebensjahr errechnet, während die von Doerr (1977) aufgrund von Mumps-HAH-Befunden errechnete katalytische Durchseuchungskurve in den verschiedenen Altersgruppen gut mit den von uns gemessenen Werten übereinstimmt.

Die höheren Antikörper-Titer (NT, HAH) bzw. die höheren Antikörper-Titerbereiche (IF1) in den ersten 3 Lebensmonaten nehmen vom 3. bis zum 6. Lebensmonat ab, während bei den 7 bis 12 Monate alten Kindern wieder höhere Titer vorliegen. Dies läßt vermuten, daß in diesem Alter schon vereinzelt frische Mumpsinfektionen vorkommen können. Es bleibt zu klären, ob restliche passive Mumps-AK durch die in diesem Alter beginnenden Parainfluenzainfektionen mit Typ 1

und 3 gesteigert werden können.

Bei den 1 bis 6jährigen ist der Anteil höherer Titer am größten. Hohe und niedrige Titer sind bei den 7 bis 14jährigen etwa gleich häufig. Bei den 15 bis 26jährigen ist eine leichte Zunahme höherer Titer zu beobachten, während nach dem 27. Lebensjahr die niedrigen Titer überwiegen.

Da hohe Titer auf kürzliche Infektionen hinweisen, kann aus unserer Durchseuchungsstudie geschlossen werden, daß die Hauptdurchseuchung mit Mumpsviren zwischen dem 1. und 6. Lebensjahr stattfindet. Die bei den 15 bis 26jährigen festgestellte Häufung höherer Titer ist am ehesten als Boosterreaktion der Mumps-Antikörper-Titer durch Reinfektion mit Parainfluenzavirus zu erklären. Diese finden bei Erwachsenen häufig statt (Tyrell, 1959; Chanock, 1963; Lennette, 1963).

Die oft ausgesprochene Vermutung auf Zweitinfektionen mit Mumps (Cooney, 1975; St. Geme, 1975; Weibel, 1978) sind bisher nie bewiesen worden.

Die dargelegten Durchseuchungsverhältnisse zeigen, daß

1. die Mumpsimpfung zur Verhütung der Haupt-Mumpskomplikation Meningitis im frühen Lebensalter, d.h. zwischen dem ersten und zweiten Lebensjahr durchzuführen ist und
2. im hauptgebährfähigen Alter von 18 bis 34 Jahren noch ca. 10 % der Frauen nicht immun und deshalb der Möglichkeit einer Mumpsinfektion in der Schwangerschaft ausgesetzt sind. Diese ist wegen des noch nicht abgeklärten Risikos einer kindlichen Schädigung bzw. neonatalen Erkrankung noch immer gefürchtet.

Nachdem der Zeitpunkt und das Ausmaß der Mumpsdurchseuchung von Umweltbedingungen beeinfluß wird, setzt z.B. bei isoliert lebender Landbevölkerung die Durchseuchung später ein und ist dann häufig auch im Erwachsenenalter, so z.B. bei Frauen im gebärfähigen Alter oder Rekruten, geringer als bei Großstädtern, besonders in niederem sozialen Milieu.

Diese Unterschiede konnten wir auch anhand der Titerbefunde in den prävakzinalen Seren unserer Impflinge aus der Stadt und verschiedenen sozialen Schichten bzw. ländlichen Bezirken feststellen.

Zur optimalen Erfassung der Mumpsdurchseuchung erscheint uns von allen geprüften Testarten der ELISA wegen seines Vorteils zur Erfassung des Gesamtantikörperspektrums und seiner höheren Empfindlichkeit mit 2 bis 16fach höheren Titern als die im NT und IF1 gemessenen am besten geeignet.

Eine verläßliche und schnelle Aussage über die individuelle Mumpsimmunitätslage, d.h. ob ein tragfähiger Schutz gegen eine Mumpsinfektion vorliegt, wird in der Praxis vor allem bei schwangeren Frauen mit Mumpskontakt in der Früh- und Spätschwangerschaft zwecks eventueller Gammaglobulin- und/oder Expositionsprophylaxe für das Neugeborene erwartet. Dies gilt auch für die Feststellung der Notwendigkeit von Individualimpfungen für ältere Kinder, besonders mit Grundleiden, und Erwachsener.

Für eine diesbezügliche Aussage muß das Vorkommen heterologer Antikörper nach Mumps- und Parainfluenzainfektionen berücksichtigt werden. Diese werden nach unseren Untersuchungen nicht nur in der KBR, dem HAH und NT, wie bisher in der Literatur beschrieben (Lennette, 1963; Brown, 1969), sondern mit den von uns verwendeten Antigenen auch im IF1 und ELISA erfaßt (Enders, noch unveröffentlicht).
Nach den wenigen diesbezüglich vorliegenden Studien (Lennette, 1963) ist bei Mumpsinfektion in Abwesenheit früher durchgemachter Parainfluenzainfektionen der Mumpsantikörperbefund spezifisch und erlaubt demnach eine sichere Aussage über die Schutzlage. Dies ist nach unseren vergleichenden Untersuchungen im IF1 bei 30 Probanden im Alter von 1 bis 5 Jahren der Fall. Diese Kinder waren entweder für Mumps und Parainfluenzavirus 2 antikörpernegativ, oder sie besaßen Antikörper nur gegen eines der beiden Viren.
Die heterologen Antikörper treten erst bei älteren Kindern und Erwachsenen, das heißt mit zunehmender Durchseuchung mit Mumps und den Parainfluenzaviren 1, 2 und 3 auf. Nach Lennette (1963) wurden bei Rekruten nach frischer Mumpsinfektion heterologe Titeranstiege für alle 3 Parainfluenzaviren festgestellt.
Auch wir fanden, daß die Mehrzahl der von uns untersuchten älteren Kinder und Erwachsenen Mumps- und Parainfluenza-2-Antikörper besaßen, und daß bei den durch IgM-Antikörper-Nachweis serologisch gesicherten frischen Mumps- bzw. Parainfluenza-2-Infektionen

anamnestische heterologe Antikörperreaktionen meist mit höheren Titern als für das homologe infizierende Virus auftraten. Deshalb ist die Beurteilung niedriger Mumps-Antikörper-Titer im NT, HAH, IF1 und ELISA bei fehlenden KBR-Antikörpern im späten Kindes- und Erwachsenenalter im Hinblick auf die Mumpsimmunitätslage, das heißt eine spezifische, tragfähige Mumpsimmunität problematisch.

7. ZUSAMMENFASSUNG

Die konventionellen Testarten NT und HAH, wie auch den bisher für Mumps-IgG- und IgM-Antikörper-Bestimmungen kaum eingesetzten IF1 haben wir in Vorversuchen im Hinblick auf geeignete Antigene, Spezifität, Empfindlichkeit und Praktikabilität geprüft und die nach unseren Ergebnissen ermittelte, jeweils zuverlässigste und einfachste Technik für unsere Studien über Mumps-Antikörper-Verläufe nach frischen Infektionen, Immunitätslagen und Impferfolge angewendet. Außerdem wurde der Wert der KBR mit Misch-, V- und S-Antigen, des HIG und des ELISA für die Bestimmung von verschiedenartig erworbenen Mumps-IgG- und IgM-Antikörpern durch Vergleichsuntersuchungen an ausgewählten Serumkollektiven festgestellt.

Die Antikörperentwicklung und Persistenz nach natürlicher Mumpsinfektion wurde an 211 Patienten (28 % weiblich, 72 % männlich) in den Testarten KBR, NT, HAH, HIG, IF1 und ELISA auf IgG- und im IF1 und ELISA auch auf IgM-Antikörper von Infektionsbeginn bis zu 3 Jahren danach überprüft. Für die Ergebnisse 1 bis 3 Jahre nach Infektion ist zu berücksichtigen, daß uns für diese Zeitpunkte nur relativ wenig Seren unseres Patientenkollektivs zur Verfügung standen.

Es wurde gezeigt, daß in den ersten 3 Krankheitstagen nur 53 % bzw. 78 % der Patienten in der KBR mit Mischantigen Antikörper mit einem GMT von $2^{3,6}$ bzw. $2^{4,3}$ und 45 % bzw. 58 % NT-Antikörper mit einem mittleren Titer von $2^{2,5}$ bzw. $2^{3,0}$ sowie 33 % bzw. 75 % HAH-Antikörper mit einem GMT von $2^{3,0}$ bzw. $2^{3,2}$ aufwiesen.

Nach 9 Tagen wurden Mumpsantikörper in der KBR und nach 15 Tagen im NT und im HAH bei 100 % der Patienten mit mittleren Titern von $2^{5,5}$, $2^{5,6}$ und $2^{5,8}$ gefunden. Der Prozentsatz der in der KBR seropositiven Patienten fiel nach 6 Monaten auf 89 % (GMT: $2^{3,8}$) und nach 1 bis 3 Jahren auf 79 % (GMT: $2^{3,6}$) ab, während im NT und HAH über den Testzeitraum von 3 Jahren bei 100 % der Patienten die Antikörper mit mittleren Titern von $2^{4,9}$ bzw. $2^{4,8}$ gemessen wurden.

Die Überprüfung der Nachweisbarkeit der KBR-Antikörper mit käuflichen S- und V-KBR-Antigenen ergab entgegen der Literatur (Henle, 1948a, b), daß die Nachweisempfindlichkeit der frühen Mumps-Antikörper 1 bis 2 Tage nach Erkrankungsbeginn mit dem V-Antigen (70 %) bei höherem GMT ($2^{4,1}$) besser war als mit dem S- und Mischantigen (40 %, GMT $2^{3,3}$). Auch im weiteren Verlauf wurde mit dem V-Antigen, gefolgt von den Mischantigenen, die höchsten Seropositivraten und die höchsten mittleren Titer erzielt, während das S-Antigen bei geringerer Nachweisempfindlichkeit niedrigere Titer erbrachte. Nach 2 1/2 Jahren waren Anti-V-KBR-Antikörper bei allen Patienten, Anti-S- bzw. Anti-Mischantigen-Antikörper noch in 2 bzw. 3 von 5 Fällen vorhanden.

Mit dem HIG-Test wurden ab dem 7. Erkrankungstag bei 100 % der Patienten positive Reaktionen erzielt. Diese erreichten ihren Maximalwert am 15. Erkrankungstag mit einem mittleren Durchmesser der Hämolysehöfe von 12,9 mm, der nach 3 Jahren auf 9,9 mm abfiel. Zwischen den Durchmessern der Hämolysehöfe des HIG und den KBR-bzw. IF1-IgG-Titern bestand keine gute lineare Abhängigkeit ($r = 0,4$).

Die IgG-Antikörper wurden im IF1 am 3. Erkrankungstag bei 75 % und im ELISA bei 90 % der Patienten gemessen. Am 7. bzw .15. Tag waren im ELISA und IF1 bei 100 % der Patienten IgG-Antikörper nachweisbar, die bei allen Patienten über den geprüften Zeitraum vorhanden blieben. Das Titermaximum war im ELISA schon am 7. Tag mit $2^{11,5}$ und im IF1 ab dem 25. Tag mit $2^{8,6}$ erreicht.
Die spezifischen IgM-Antikörper konnten im IF1 am 3. Erkrankungstag bei 81 % der Patienten und zwischen dem 15. und 25. Tag bei 100 % nachgewiesen werden. Das Titermaximum der IgM-Antikörper war nach 7 Tagen mit $2^{6,9}$ erreicht. Nach 4 bis 8 Monaten waren IgM-Antikörper bei keinem Patienten mehr nachweisbar.
Im ELISA konnten von den 33 geprüften Probanden IgM-Antikörper bei 100 % am 3. Krankheitstag mit einem mittleren Titer von $2^{8,3}$ nachgewiesen werden.
Insgesamt lagen die mittleren IgG- und IgM-Titer bei guter Korrelation ($r=0,8$) der in den beiden Testarten gemessenen IgG- und IgM-Antikörper-Titer im ELISA um 2 bis 3 $\log_2$-Stufen höher als im IF1.

Diese Untersuchungsergebnisse zeigen, daß mit der Mumps-IgM-Antikörper -Bestimmung eine Schnelldiagnose schon an einer Blutprobe aus der frühen Erkrankungsphase möglich ist, während die anderen Testarten nur durch Nachweis eines signifikanten Titeranstieges an 2 Blutproben aus der frühen und Rekonvaleszentenphase eine sichere Mumpsdiagnose erlauben.
Die Darstellung der Antikörpertiterverläufe einzelner Mumpspatienten unter Berücksichtigung individueller Faktoren wie Symptomatik, Alter oder Immunsuppression ließ eine dem obigen Patientenkollektiv entsprechende Antikörperentwicklung in allen Testarten erkennen. Auch hier ermöglicht der Nachweis hoher IgM-Antikörper-Titer im IF1 und/oder ELISA in der ersten Blutprobe die Schnelldiagnose.
Abweichend von Patienten mit unkompliziertem Krankheitsverlauf wurde jedoch bei 3 Patienten mit den Komplikationen Orchitis, Meningitis und Meningoenzephalitis unabhängig vom Alter eine längere Persistenz der Mumps-IgM-Antikörper bis zu 18 Monaten gefunden. Auch bei 2 von 4 schwangeren Frauen mit Mumpserkrankung zeigten die IgM-Antikörper eine längere Persistenz. Bei einer weiteren Schwangeren mit mumpsähnlichen Symptomen konnte anhand der Mumps- und Parainfluenza-2-Antikörper-Befunde nicht entschieden werden, ob ein Reinfekt mit Mumps oder eine frische Parainfluenza-2-Virus-Infektion mit Boosterung der Mumps-Antikörper vorlag.

Die Untersuchungen über heterologe Antikörperreaktionen gegen das Parainfluenza-2-Virus bei frischer Mumpsinfektion wurden bei 18 Patienten im Alter von 4 bis 74 Jahren durchgeführt. Bei 17 der Patienten konnten entweder hohe Einzeltiter (n=3), gleichbleibend hohe KBR- und IF1-IgG-Titer (n=6) oder Titeranstiege (n=8) auf höhere Werte als die für Mumps gefunden werden. Während bei allen 18 Patienten hohe Mumps-IgM-Antikörper-Titer vorlagen, waren Parainfluenza-2-IgM-Antikörper nur in 2 Fällen in fraglichen Titern nachweisbar.

Als weiteren Hinweis auf die reziproken serologischen Kreuzreaktionen nach Mumps- und Parainfluenza-Infektionen stellten wir bei 4 Patienten mit frischen, IgM-Antikörper-positiven Parainfluenza-2-Infektionen ebenfalls gleichbleibend hohe präexistente bzw. signifikant ansteigende Mumps-Antikörper-Titer in der KBR bzw. im IF1-IgG-Test fest. Dagegen fehlten IgM-Antikörper für Mumps. Unsere Befunde zeigen, daß bei älteren Kindern und Erwachsenen nur durch die IgM-Antikörper-Bestimmung serologisch

einwandfrei geklärt werden kann, ob eine frische Mumps- oder Parainfluenza Infektion vorliegt.

Die Mumpsantikörperentwicklung nach aktiver Schutzimpfung wurde an vor und 6 bis 21 Wochen nach der Impfung entnommenen Seren von 120 Kindern im Alter von 1 bis 15 Jahren untersucht. Eine 100 % Konversionsrate wurde nur mit dem ELISA (IgG) an wenigen (21) darin getesteten Serumpaaren erzielt.
Mit dem NT, dem HAH, der KBR, dem IF1 (IgG) und dem HIG-Test betrug die Serokonversionsrate bei den prävakzinal seronegativen Kindern 79 %, 96 %, 56 %, 90 % und 88 %. IgM-Antikörper wurden mit dem IF1 und ELISA bei den 9 bis 21 Wochen nach Impfung entnommenen Seren in 60 % bzw. 70 % gefunden.
Bei den prävakzinal seropositiven Impflingen im Alter zwischen 6 und 15 Jahren wurden Titersteigerungen im NT bei 57 % und im HAH bei 55 % um 1 bis 3 Titerstufen sowie im IF1 (IgG) bei 71 % um das Doppelte gefunden. Die präexistenten KBR-Antikörper, die in 21 % nachweisbar waren, erfuhren durch die Impfung keine Titersteigerung.
Heterologe Serokonversionen oder Titeranstiege für Parainfluenza-2-IgG- und IgM-Antikörper im IF1 wurden bei den prävakzinal seronegativen, erfolgreich geimpften Kindern nicht festgestellt.
Auch bei den 7 geprüften Kindern mit erfolgreicher Masernimpfung erfolgten keine Serokonversionen und heterologen Titeranstiege für Mumps oder Parainfluenza-2-Virus.

Die Durchseuchungsverhältnisse für Mumps wurden an 922 Serumproben von Probanden aller Altersgruppen untersucht.
Die bei 65 bis 69 % der 1-3 Monate alten Säuglinge im NT, im HAH und im IF1 (IgG) festgestellten mütterlichen Antikörper fielen bis zum 6. Lebensmonat weitgehend ab und waren zwischen dem 7. und 12. Lebensmonat nur noch bei ca. 7 bis 10 % meßbar. Die Mumpsdurchseuchung beginnt mit ca. 25 % bei den 1 bis 2jährigen und nimmt mit ca. 42 % bei den 3 bis 4jährigen und 7o bis 8o % bei den 5 bis 6jährigen Kindern zu. Das Durchseuchungsmaximum mit 90 % wird erst bei den 13 bis 14jährigen erreicht und bleibt bis zum 34. Lebensjahr bestehen.
Bei den Probanden jenseits des 35. Lebensjahres wurden im NT und IF1 nur noch in 84 bis 87 % Mumps-Antikörper nachgewiesen.

Die Höhe der mittleren Antikörper-Titer (NT, HAH) bzw. die höheren Antikörper-Titerbereiche (IF1) nehmen vom 3. bis zum 6. Lebensmonat ab und steigen aber schon zwischen dem 7. bis 12. Lebensmonat wieder etwas an. Bei den 1 bis 6jährigen ist der Anteil höherer Titer am größten (NT-GMT: von $2^{3,4}$ bis $2^{4,2}$). Bei den 7 bis 14jährigen kommen höhere ($\geq$ 16) und niedere Titer jeweils zu ca. 50 % vor, während bei den 15 bis 26jährigen der Anteil höherer Titer wieder leicht ansteigt. Jenseits des 27. Lebensjahres findet man mit dem IF1 zu 70 -80 % niedere Mumps-Antikörper-Titer. Der NT-GMT liegt in dieser Altersgruppe bei $2^{3,4}$.

Der Vergleich von 83 im IF1(IgG) getesteten Probandenseren aus der Durchseuchungsstudie mit dem ELISA ergab Übereinstimmung der im IF1 Seronegativen in 88,2 % und der im IF1 Seropositiven in 92,4 %. Dabei wurden im ELISA 2 bis 16fach höhere mittlere Titer gefunden. Zwischen den IF1- und ELISA-Titern bestand keine gute lineare Abhängigkeit (r=o,4).
Von 40 Probanden im Alter von 1 bis 31 Jahren wurden die Seren zusätzlich auf IF1-IgG- und IgM-Antikörper gegen das Parainfluenza-2-Virus untersucht. Bei allen Probanden konnte ein frischer Infekt mit Mumps und Parainfluenza 2 ausgeschlossen werden, da keine IgM-Antikörper vorhanden waren. Bei 75 % der Probanden, und zwar vorwiegend bei den 1 bis 5jährigen, wurden entweder Mumps- oder Parainfluenza-2-IgG-Antikörper oder keine Antikörper gegen beide Viren gefunden. In 25 %, vorwiegend bei Erwachsenen, fanden wir gleichzeitig Mumps- und Parainfluenza-2-IgG-Antikörper. Die Parainfluenza-2-IgG-Titer waren in jedem Fall höher als die Mumps-IgG-Titer. Eine Aussage über die Schutzlage für Mumps ist dementsprechend nicht eindeutig möglich.

Zusammenfassend ergibt unser Vergleich aller Testarten zum Nachweis von Mumpsantikörpern bei den verschiedenen Probandengruppen (Patienten, Impflinge, Durchseuchung, Immunitätslagen), daß der ELISA vor dem IF1 die höchste Empfindlichkeit aufweist, daß aber der IF1 in niederen Titerbereichen eine höhere Spezifität zeigt. Auch für die Erfassung von IgM-Antikörpern besitzt nach unseren bisherigen Ergebnissen der ELISA die höhere Nachweisempfindlichkeit als der IF1 bei entsprechender Spezifität. KBR, NT und HIG sind in der Empfindlichkeit und Spezifität etwa gleichwertig, während der HAH durch mangelnde Spezifität eine höhere bzw. niedere Empfindlichkeit vortäuscht.

8. LITERATURVERZEICHNIS

Aase, J.M., G.R. Noren, D.V. Reddy, J.W. St. Geme: Mumps-virus infection in pregnant women and the immunologic response of their offspring.
N.Engl.J.Med. 286, 1379-1382 (1972)

Adair, C.V., R.L. Gauld, J.E. Smadel: Aseptic meningitis, a disease of diverse etiology: clinical and etiologic studies on 854 cases.
Ann. Intern.Med. 39, 675-704, (1953)

Assaad,F., W.C. Cockburn: A seven year study of WHO virus laboratory reports on respiratory viruses.
Bull. World Health Organ. 51, 437-445 (1974)

Avrameas, S.: Coupling of enzymes to proteins with glutaraldehyde.
Immunochemistry 6, 43-52 (1969)

Azimi, P.H., H.G. Cramblett, R.E. Haynes: Mumps meningoencephalitis in children.
J. Am.Med.Assoc. 207, 509 - 512 (1969)

Banatvala, J.E., T.B. Anderson, B.B. Reiss: Parainfluenza infections in the community.
Br. Med.J. 1, 537-540 (1964)

Bart,K.J., G.A. Nankervis, E. Gold: Indicators of mumps immunity and the effect of intradermal antigen and mumps vaccine on antibody level.
Am.J.Epid. 98, 33-42 (1973)

Bashe, W.J., T. Gotlieb, G. Henle, W. Henle: Studies on the prevention of mumps VI. The relationship of neutralizing antibodies to the determination of susceptibility and to the evaluation of immunization procedures.
J.Immunol. 71, 76-85 (1953)

Behringwerke AG, Medizinische Information, Ffm-Höchst, 25. 1. 1978

Berger, J.: Zur Infektionskinetik bei Toxoplasmose, Röteln, Mumps und Cytomegalie.
Zbl.Bakt.Hyg. I.Abt.Org.A 224, 503-522 (1973)

Bjorvatn, B., S. Wolontis: Mumps meningoencephalitis in Stockholm Nov. 1964-July 1971 III Some epidemiological aspects.
Scand.J.Infect.Dis.6, 5-12 (1974 a)

Bjorvatn , B.: Incidence and persistance of mumps-specific IgM and IgG in the sera of mumps patients.
Scand.J.Infect.Dis.6, 125-129 (1974b)

Black, F.L.: A nationwide serum survey of United states military recruits, 1962 III Measles and mumps antibodies.
Am.J.Hyg. 8o, 3o4-3o7 (1964)

Black,F.L., W.J. Houghton: The significance of mumps hemagglutinin inhibition titers in normal populations.
Am.J.Epidemiol. 85, 1o1-1o7 (1967)

Bloom, H.H., K.M. Johnson, R. Jacobsen, et al.: Recovery of parainfluenza viruses from adults with upper respiratory illness.
Am.J.Hyg. 74, 5o-59 (1961)

Bonin, O: Quantitativ-virologische Methodik,
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1973

Borgono, J.M., R. Greiber, G. Solari, F. Concha, B. Carrillo, M.R. Hilleman: A field trial of combined measles-mumps-rubella vaccine I Satisfactory immunization with 188 children in chile.
Clin.Pediatrics 12, 17o-172 (1973)

Brickman, A., P.A. Brunell: Susceptibility of medical students to mumps: comparison of serum neutralizing antibody and skin test.
Ped. 48, 447-45o (1972)

Brill, S.J., R.F. Gilfillan: Acute parotitis associated with influenza type A.
New Engl.J.of Med. 296, 1391-1392 (1977)

Brown, G.C., J.V. Baublis: Mumps fluorescent antibody in IgM fraction of human serum.
Bact.Proc. 76, 157 (1968)

Brown, G.C., J.V. Baublis, T.P. O'Leary: Development and duration of mumps fluorescent antibodies in various immunoglobulin fractions of human serum. J. Immunol. 1o4, 86-94 (1969)

Brown, P.K., D. Taylor-Robinson: Respiratory virus antibodies in sera of persons living in isolated communities.
Bull. WHO 34, 895-9oo (1966)

Brunell, P.A., A. Brickman, D. O'Hare, S. Steinberg: Ineffectiveness of isolation of patients as a method of preventing the spread of mumps. Failure of the mumps skin-test to predict immune status. New Engl.J.of Med. 279, 1361-1375 (1968)

Mitteilungen aus dem Bundesgesundheitsamt, Nr. 5, 4. März 1977: 11. Sitzung der Ständigen Impfkommission des Bundesgesundheitsamtes: Empfehlungen zur Mumpsschutzimpfung.

Burnet, F.M.: Mucins and mucoids in relation to influenza virus action. III Inhibitors of virus-hemagglutination by glandular mucins. Aust. J.exp.Biol.med.Sci. 26, 371 (1948)

Buynak, E.B., M.R. Hilleman: Live attenuated mumps virus vaccine. 1. Vaccine development.
Proc. Soc.Exp.Biol.Med. 123, 768-775 (1966)

Buynak, E.B., J.E. Whitman, R.R. Roehm, D.H. Morton, G.P. Lampson, M.R. Hilleman: Comparison of neutralizing and hemagglutination-inhibition techniques for measuring mumps antibody.
Proc. Soc.Exp.Biol.Med. 125, 1068-1071 (1967)

Buynak, E.B., R.E. Weibel, J.E. Whitman, J.Stokes, M.R. Hilleman: Combined live measles, mumps and rubella virus vaccines.
J.Am.Med.Assoc. 207, 2259-2262 (1969)

Cerini, C.P., V.J. Cabasso: Indirect fluorescence technique for detection of mumps antibodies in human serum.
Appl. Microbiol. 16, 1613 - 1615 (1968).

Chanock, R.M.: Association of a new type of cytopathic myxovirus with infantile croup.
J.Exp. Med. 104, 555 (1956)

Chanock, R.M., R.H. Parrott, K.M. Johnson, A.Z. Kapikian, J.A. Bell: Myxoviruses: parainfluenza.
Am.Rev. Resp.Dis. 88, 152 (1963)

Chanock, R.M., R.H. Parrott: Acute respiratory disease in infancy and childhood: present understanding and prospects for prevention.
Pediatrics 36, 21 (1965)

Chiba, Y., J.L. Dzierba, A. Morag, P.L. Ogra: Cell-mediated immune response to mumps virus infection in man. J.of Immunol. 116, 12-15 (1976).

Clarke, D.H., J. Casals: Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses.
Amer.J.trop.Med.Hyg. 7, 561 (1958)

Cook, M.K., B.E. Andrews, H.H. Fox, H.C. Turner, W.D. James, R.M. Chanock: Antigenic relationships among the "newer" myxoviruses (parainfluenza).
Am.J.Hyg. 69, 250 (1959)

Cooney, M.K., J.P. Fox, C.E. Hall: The seattle virus watch VI. observation of infections with and illness due to parainfluenza, mumps and respiratory syncytial viruses and mycoplasma pneumoniae.
Am.J.Epid. 1o1, 532-551 (1975).

Daugharty, H., D.T.Warfield, M.L. Davis: Solid phase radioimmunoassay of total and influenza-specific immunoglobulin G.
Appl. Microbiol. 23, 36o-367 (1972)

Daugharty, H., D.T. Warfield, W.D. Hemingway: Mumps class-specific immunoglobulins in radioimmunoassay and conventional serology.
Infect.Immun. 7, 38o-385 (1973)

De Meio, J.L., D.L. Walker: Demonstration of antigenic relationship between mumps virus and hemagglutinating virus of japan.
J. Immunol. 78, 465 (1957)

Deibel, R., T.D. Flanagan, V. Smith: Central nervous system infections in new york state.
N.J.St.J.Med. 75 (1975)

Deinhardt, F., G. Henle: Determination of neutralizing antibodies against mumps virus in Hela cell cultures.
J. Immunol. 77, 4o-45 (1956)

Deinhardt, F., G. Shramek: Development of an attenuated mumps virus vaccine. I determination of neutralizing serum antibodies against mumps virus.
J. Immunol. 93, 462-465 (1964)

Deinhardt, F., G.J. Shramek: Immunization against mumps.
Progr.med.Virol. 11, 126-153 (1969)

Doerr, H.W., H.-D. Schweiss, K. Henninger, H. Sochanik: Simple mathematical deductions in the seroepidemiology of viral infections. II (para)myxoviruses (measles, mumps, influenza B), rubella, enteroviruses (polio,

coxsackie B), adenoviruses, and mycoplasma pneumoniae.
Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.A 238, 165-176 (1977)

Dold, H.J., R.L. Northrop: Thenonspecific inhibitors of rubella-virus hemagglutination.
Proc.Soc.exp. Biol. (N.Y.) 128, 557 (1968)

Dulbecco, R., M. Vogt: Plaque formation and isolation of pure lines with poliomyelitis viruses.
J. exp.Med. 99, 167 (1954)

Ehrengut, W., H. Wiechern: Mumps und seine Folgen: Schutzimpfung?
Behring-Werk-Mitteilungen XII., 83-93 (1972)

Enders, J.F.: Observations on immunity in mumps.
Ann.intern.Med. 18, 1015-1019 (1943)

Enders, J.F., L.W. Kane, S. Cohen, J.H. Levens: Immunity in mumps. I. Experiments with monkeys (macacus mulatta). the development of complement-fixing antibody following infection and experiments on immunization by means of inactivated virus and convalescent human serum.
J.exp.Med. 81, 93-117 (1945 a)

Enders, J.F., S. Cohen, L.W. Kane: Immunity in mumps. II. the development of complement-fixing antibody and dermal hypersensitivity in human beings following mumps.
J.exp.Med. 81, 119-135 (1945 b).

Enders, J.F., L.W. Kane, E.P. Maris, J. Stokes: Immunity in mumps V. the correlation of the presence of dermal hypersensitivity and resistance to mumps.
J.exp.Med. 84, 341-346 (1946)

Enders, G.: Röteln und Schwangerschaft
Gynäkologe 10, 15-30 (1977)

Engvall, E., P. Perlmann: Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). quantitative assay of immunoglobulin G.
Immunochemistry 8, 871-874 (1971)

Ennis, F.E., R.D. Douglas, G.L. Stewart, H.E. Hopps, H.M. Meyer: A plaque neutralization test for determining mumps antibodies.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 129, 896-899 (1968)

Feldman, H.A.: Mumps. In: Viral Infections of Humans.
Epidemiology and Control.
Edit.J.Wiley + Sons Ltd., 317-332 (1976)

Flanagan, T.D., A.L. Barron: Plaque formation by mumps virus and inhibition by antiserum.
Appl. Microbiol. 19, 36o-366 (197o)

Forghani, N.J., Schmidt, E.H. Lennette: Sensitivity of a RIA method for detection of mumps antibodies in sera and CSF.
J.Clin.Microbiol. (1977)

Foy, H.M., M.K. Cooney, C.E. Hall, E. Bor, A.J. Maletzky: Isolation of mumps virus from children with acute lower respiratory tract disease.
Am.J.Epid.94, 467-472 (1971)

Galko, N.V.: Material for a study of immunity against mumps by the neutralization reaction in tissue cultures.
J.Hyg.Epid.Microbiol.Immunol. 9, 5oo - 5o9 (1965)

St. Geme, J.W., T. Yamauchi, E.J. Eisenklam, G.R. Noren, J.M. Aase, R.B. Jurmain, R.M. Henn, M.C. Gabel, A.W. Hollister, R.Paumier: Immunologic significance of the mumps virus skin test in infants, children and adults.
Am.J.Epid. 1o1, 253-263 (1975)

Gilles, R., G. Monif: Maternal mumps infection during gestation: observation on the progeny.
Amer.J.Obstet.Gynecol. 119, 549-551 (1974)

Glezen, W.P., F.A. Loda, W.A. Clyde, C.J. Sheaffer, W.G. Conley, F.W. Denny: Epidemiologic patterns of acute lower respiratory disease of children in a pediatric group practice.
J.Pediat. 78, 397 (1971)

Glezen, W.P., F.W. Denny: Epidemiology of acute lower respiratory disease in children.
N.Engl.J.Med. 288, 498-5o5 (1973)

Glezen, W.P., F.A. Loda, F.W. Denny: The parainfluenza viruses.
In: Viral Infections of Humans. Epidemiology and Control.
Edit.J.Wiley + Sons Ltd. 317-332 (1976)

Gordon, J.E., L. Kilham: Ten years in epidemiology of mumps.
Am.J.Med. Sci. 218, 338(1949)

Gotlieb, T., W.J. Bashe, G. Henle, W. Henle: Studies on the prevention of mumps. V. the development of a neutralization test and its application to convalescent sera.
J. Immunol. 71, 66-75 (1953)

Gresser, J., J.F. Enders: Cytopathogenicity of mumps virus in cultures of chick embryo and human amnion cells.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 107, 804-807 (1961)

Grillner, L., J. Blomberg: Hemolysis-in-gel and neutralization tests for determination of antibodies to mumps virus.
J.Clin.Microbiol. 4, 11-15 (1976)

Habel, K.: Cultivation of mumps virus in the developing chick embryo and its application to studies of immunity to mumps in man.
Publ.Hlth.Rep.,Wash. 60: 201-212 (1945)

Härfast, B., T. Andersson, P. Perlmann: Human lymphocyte cytotoxicity against mumps virus-infected target cells. Requirement for non-T-cells.
J.Immunol. 114, 1820-1823 (1975)

Hall, C.E., C.D. Brandt, T.E. Frothingham, J. Spigland, M.K. Cooney, J.P. Fox: The virus watch program: a continuing surveillance of viral infections in metropolitan New York families. IX. a comparison of infections with several respiratory pathogens in New York and New Orleans families.
Am.J.Epidemiol. 94, 367 (1971)

Hanks, J.H., R.E. Wallace: Relation of oxygen and temperature in the preservation of tissues by refrigeration.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 71, 196-200 (1949)

Henle, G., C.L. McDougall: Mumps-meningoencephalitis. Isolation in chick embryos of virus from spinal fluid of a patient.
Proc.Soc.Exp. Biol.Med. 66, 209-211 (1947a)

Henle, G.,W.Henle, S. Harris: The serological differantiation of mumps complement fixation antigens.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. (N.Y.) 64, 290-295 (1947b)

Henle, G., S. Harris, W. Henle: The reactivity of various human sera with mumps complement fixation antigens.
J.Exp.Med. 88, 133-147 (1948a)

Henle, G., W. Henle, S. Harris: The use of complement fixation technic in the analysis of two institutional outbreaks of mumps.
Ped. 1, 593-600 (1948b)

Henle, G., W.Henle, Wendell, Rosenberg: Isolation of mumps virus from human beings with induced apparent or inapparent infection.
J.Exp.Med. 88, 223-232 (1948c)

Henle, G., W.Henle, J.S. Burgoon, W.J.Bashe, J.Stokes: Studies on the prevention of mumps. I.the determination of susceptibility.
J. Immunol. 66, 535-549 (1951a)

Henle, G., J.S.Burgoon, W.J.Bashe, C.F.Burgoon, J.Stokes, W.Henle: Studies on the prevention of mumps. II the effect of skin testing upon antibody level and resistance.
J.Immunol. 66, 551-56o (1951b)

Henle,G., F.Deinhardt, A.Girardi: Cytolytic effects of mumps virus in tissue cultures of epithelial cells.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 87, 386-393 (1954)

Henle,W., M.N.Crawford, G.Henle, H.Faz Tabio, F.Deinhardt, A. Guerra Chabau, I.J. Olshin: Studies on the prevention of mumps. VII evaluation of dosage schedules for inactivated mumps vaccine.
J.Immunol. 83, 17-28 (1959)

Henle,W.: Clinical and pathological features of mumps. In Diagnostic Procedures for Viral and Rickettsial Diseases. 4th Edition, American Public Health Association Inc. (1969)

Hernandez, R., J.Just, A.Bürgin-Wolff: Screening for mumps immunity with the microtiter solidphase radioimmunoassay.
Infection 4, 121-124 (1976)

Hierholzer,J.C., M.T.Suggs, E.C. Hall: Standardized viral hemagglutination inhibition tests. II description and statistical evaluation.
Appl.Microbiol. 18, 824-833 (1969)

Hilleman, M.R., R.E. Weibel, E.B. Buynak, J. Stokes, J.E. Whitman: Live, attenuated mumps-virus vaccine 4. protective effect as measured in a field evaluation.
New Engl.J.Med. 276, 252 (1967)

Hilleman, M.R.: Procedures for mumps neutralization test.
Laborvorschrift, 6/26/1973

Hilleman,M.R., R.E. Weibel,E.B. Buynak: Practical aspects concerning combined live viral vaccines.
Schw.Rdsch.Med.(Praxis) 64, 98-1o8 (1975)

Hodes,D.,P.A.Brunell: Mumps antibody: placental transfer and disappearence during the first year of life.
Ped., 45, 99-1o1 (197o)

Hook,E.W., S.D. Poole, W.F. Friedewald: Virus isolation and serological studies on patients with clinical mumps.
J.Infect.Dis. 84, 23o (1949)

Horne, R.W., A.P. Waterson, P. Wildy, A.E. Farnham: The structure and composition of myxoviruses. I. Electron microscope studies of the structure of myxovirus particles by negative staining techniques.
Virology 11, 79-98 (1960)

Hsiung, G.D., P. Isacson, G. Tucker: Studies of parainfluenza viruses. II serologic interrelationships in humans.
Yale J.Biol. Med. 35, 534-544 (1963)

Huppertz, H.J.,W.W.Hall, V.ter Meulen: Polypeptide composition of mumps virus.
Med.Microbiol.Immunol. 163, 251-259 (1977)

Iwakata, S., A.J. Rhodes, N.A. Labzoffsky: The significance of specific IgM antibody in the diagnosis of rubella employing immunofluorescence techniques.
Can.Med.Assoc.J. 106, 327-330 (1972)

Jackson,G.G., R.L.Muldoon: Viruses causing common respiratory infections in man. II enteroviruses and paramyxoviruses.
J.Infect.Dis. 128, 387-469 (1973)

Jensik,S.G., S. Silver: Polypeptides of mumps virus
J.Virol. 17, 363-373 (1976)

Katz, M.: Is there mumps embryopathy? An unanswered question.
Clin.Ped. 6 (1967)

Kenny, M.T., K.L. Albright, R.P. Sanderson: Microneutralization test for determination of mumps antibody in Vero cells.
Appl.Microbiol. 20, 371-373 (1970)

Kenny, M.T., K.Schell: Microassay of measles and mumps virus and antibody in Vero cells.
J.Biol. Stand. 3, 291-306 (1975)

Kenny, M.T., J.E. Jackson, E.M. Medler, S.A. Miller, R. Osborn: Age-related immunity to measles, mumps and rubella in middle american and United States children.
AmJ.Epid. 103, 174-180 (1976)

Kilham,L.: Isolation of mumps virus from the blood of a patient.
Proc.Soc.Exper.Biol.Med. 69, 99-100 (1948)

Kilham, L.: Mumps meningoencephalitis with and without parotitis.
Am.J.Dis.Child. 78, 324-333 (1949)

Kilham, L.: Mumps virus in human milk and in milk of infected monkey.
J.Am.Med.Assoc. 146, 1231-1232 (1951)

Kilham, L., H.W. Murphy, J.R. Overman: Performance of mumps neutralization tests in suckling mice.
J.Immunol. 71, 183-186 (1953)

Kolmer, J.A., F. Boerners: Approv. labor. Technik. Appelton Century & Co. New York (1941)

Korones, S.B., J. Todaro, J.A. Roane, J.L. Sever: Maternal virus infection after the first trimester of pregnancy and status of offspring to 4 years of age in a predominantly negro population.
J. Pediat. 77, 245-251 (1970)

Krugman, S., R. Ward, eds: Mumps (epidemic parotitis), In:
Infectious Diseases of Children and Adults, 150-162, Mosby, St. Louis (1973)

Lennette, E.H., T. Shinomoto, N.J. Schmidt, R.L. Magoffin: Observations on the neutralizing antibody response to group B coxsackie viruses in patients with central nervous system disease.
J.Immunol. 86, 257 (1961)

Lennette, E.H., R.L. Magoffin, E.G. Knouf: Viral central nervous system disease.
J.Am.Med.Assoc. 179, 687-695 (1962)

Lennette, E.H., F.W. Jensen, R.W. Guenther, R.L. Magoffin: Serologic responses to parainfluenza viruses in patients with mumps virus infection.
J.Lab.Clin.Med. 61, 780-788 (1963)

Lennette, E.H., N.J. Schmidt: Diagnostic Procedures for Viral and Rickettsial Infections. 4th Edition, American Public Health Association. Inc., New York (1969)

Lepow, M.L., D.H. Carver, H.T. Wright, W.A.Woods, F.C. Robbins: A clinical, epidemiologic and laboratory investigation of aseptic meningitis during the four-year period, 1955 - 1958. I observations concerning etiology and epidemiology.
N.Engl.J.Med. 266, 1181 - 1187 (1962)

Levens, J.H., J.F. Enders: The hemagglutinative properties of amniotic fluid from embryonated eggs infected with mumps virus.
Science 102, 117 - 120 (1945)

Levitt, L.P., D.H. Mahoney, H.L. Casey, T.O. Bond: Mumps in a general population. A seroepidemiologic study.
Am.J.Dis.Child. 12o, 134-138 (1970)

Leymaster, G.R., T.G. Ward: Direct isolation of mumps virus in chick embryo.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 65, 346-348 (1947)

Leymaster, G.R., T.G. Ward: Titration of mumps neutralizing antibody in chick embryo.
Am.J.Hyg. 48, 45-52 (1948)

Liao, S.J., A.S. Benenson: Immunity status of military recruits in 1951 in the united states. II results of mumps complement-fixation tests.
Am.J.Hyg. 59, 273-281 (1954)

Lundbäck, H.: Serological diagnosis in mumps.
Brit.J.Exp.Path. 3o, 221-231 (1949)

Luthardt, T.: Vortrag, gehalten anläßlich der Tagung der Deutschen Gesellschaft für Kinderheilkunde in Kiel (12. bis 14. 9. 1977)

Luzyanina, T.Y., A.A. Smorodintsev: Neutralization of mumps virus in chick embryo cell cultures.
Acta Virol. 9, 16o-164 (1965)

Maynard, J.E., G. Shramek, G.R. Noble, F.Deinhardt, P. Clark: Use of attenuated live mumps virus vaccine during a "virgin soil" epidemic of mumps on St. Paul Island, Alaska.
Am.J.Epid. 92, 3o1-3o6 (197o)

Mayner, R.E., D.J. Dorman, B.C. Meyer, P.D. Parkman: Automated microtransfer technique for the assay of poliovirus- and mumpsvirus-neutralizing antibodies.
Appl.Microbiol. 28, 968-971 (1974)

Mayr, A., K. Kalcher: Vergleichende Studien über die Züchtung von Geflügelpocken in der Zellkultur.
Arch.ges.Virusforsch. 1o, 72 (196o)

McLean, D.M., R.D. Bach, R.P.B.Larke, G.A. McNaughton: Mumps meningoencephalitis, Toronto, 1963.
Can.Med.Assoc.J. 9o, 458-462 (1964)

Monif, G.R.G.: Transplacental mumps infection.
Am.J.Obstet.Gynecol. 125, 875-876 (1976)

Monto, A.S., K.M. Johnson: Respiratory infections in the american tropics. Am.J.Trop.Med.Hyg. 17, 867-874 (1968)

Morgan, J.F., H.J. Morton, R.C. Parker: Nutrition of animal cells in tissue culture, I.: initial studies on a synthetic medium. Proc.Soc.Exp.Biol. (N.Y.) 75, 1 (1950)

Niederman, J.C., J.R. Henderson, E.M. Opton, F.L. Black, K. Skvrnova: A nationwide serum survey of brazilian military recruits, 1964. II antibody patterns with arboviruses, polioviruses, measles and mumps. Am.J. Epidemiol. 86: 319-329 (1967)

Noren, G.R., P. Adams, R.-C. Anderson: Positive skin reaktivity to mumps virus antigen in endocardial fibroelastosis. J.Pediat. 62, 604 (1963)

Norrby, E.: Hemagglutination by measles virus. IV. A simple procedure of high potency antigen for hemagglutination-inhibition (HI) tests. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 111, 814 (1962)

Norrby, E., M. Grandien, C. Örvell: New tests for characterization of mumps virus antibodies: Hemolysis-inhibition, single radial immunodiffusion with immobilized virions, and mixed hemadsorption. J.Clin.Microbiol. 5, 346-352 (1976)

Ocklitz, H.W., B. Schmitz: Die Mumps Meningitis - eine Mumpskomplikation? Kinderärztl. Praxis, 4, 145 - 156 (1976)

Parrott, R.H., A.J. Vorgosko, H.W. Kim, J.A. Bell, R.M. Chanock: III myxoviruses: parainfluenza. Am.J.Publ.Health 52, 907-917 (1962)

Paul, J.R., J.L. Melnick: Poliomyelitis. In: Diagnostic Procedures for Virus and Rickettsial Diseases, 53-90, ed. 2, New York, American Public Health Association (1956)

Pecenkova, I., B. Tumova, D. Fedova, J. Pecenka: Serological survey of parainfluenza and parotitis in the population of czechoslovakia. J.Hyg.Epid.Microbiol.Immunol. (Praha) 19, 173-183 (1975)

Penttinen, K., K.Cantell: Parainfluenza 1 (sendai) antibodies and mumps vaccination. Ann.Med.exp.Fenn. 45, 202-205 (1967)

Philip, R.N., K.R. Reinhard, D.B. Lackman: Observations on a mumps epidemic in a virgin population .
Amer.J.Hyg. 69, 91-111 (1959)

Pille, E.R., V.M. Mzokova, A.P. Andreeva, O.G. Andzhaparidze:Possible Role of measles, rubella and mumps viruses in multiple sclerosis.
Acta Virol. 21, 139-145 (1977)

Reed, J.L., H. Muench: A simple method for estimating fifty percent end-points.
Amer.J.Hyg. 27, 493 (1938)

Reed, D., G. Brown, R. Merrick, J.Sever, E.Feltz: A mumps epidemic on st. george island, alaska.
J.Am.Med. Assoc. 199, 967-971 (1967)

Robbins, F.C., L. Kilham, J.H. Levens, J.F. Enders: An evaluation of the test for antihemagglutinin in the diagnosis of infections by the mumps virus.
J.Immunol. 61, 235-242 (1949)

Rola-Pleszcynski, M., M.M.Vincent, S.A. Hensen, J. Walser, M. Crawford, J.A. Bellanti: Chromium-release mircoassay technique for cell-mediated immunity to mumps virus: correlation with humoral and delayed-type skin hypersensitivity responses.
J.In.Dis. 134 (1976)

Russell, S.M., D. McCahon, A.S. Beare: A single radial hemolysis technique for measurement of influenza antibody.
J.gen.Virol. 27, 1-10 (1975)

Sarateanu, D.E., H. Allerdist, W. Ehrengut: Die Antikörperbildung nach Gabe von mono- und bivalenter Mumps-(Masern-)Vakzine. Immunität und Infektion. 1, 33-37 (1978)

Shina, K., D. Carlson: Immune response of mentally retarded subjects to measles, mumps and rubella vaccines.
Wisc.Med.J. 74, 75-77 (1975)

Sugg, W.C., J.A. Finger, R.H. Levine, J.S. Pagano: Field evaluation of live virus mumps vaccine.
J.Pediat. 72, 461-466 (1968)

Schell, K., M.T.Kenny, J.E.Jackson: Serological evaluation of measles virus (Schwarz strain) mumps virus (Jeryl Lynn strain)and rubella virus (Cendehill strain) combination vaccines.
J.Biol.Stand. 3, 231 (1975)

Schmidt, H., A. Stelzner, B. Hebenstreit, H. Urbach: Klinische, epidemiologische und serologische Untersuchungen bei einer Mumpsepidemie in Kindertageskrippen - ein Beitrag zur Frage des klinisch inapparent verlaufenden Mumps.
Dtsch.Ges.wesen 27, 209-213 (1972)

Schmitz, H., R. Haas: Erfahrungen mit der fluoreszenz-serologischen Bestimmung von Antikörpern gegen Cytomegalie-Virus.
Z.med.Mikrobiol.Immunol. 155, 283-296 (1970).

Schmitz, H., H.W. Doerr, D. Kampa, A. Vogt: Solid phase enzyme-linked immunoassay for IgM antibodies to cytomegalovirus.
In Druck

Schwarz, A.J.F., J.E. Jackson, N.J. Ehrenkranz, A. Ventura, G.M.Schiff, V.W. Walters: Clinical evaluation of a new measles-mumps-rubella trivalent vaccine.
Am.J.Dis.Child 129, (1975)

Stehr, K.: Referat, gehalten vor dem Immunisierungsausschuß der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Kinderlähmung und anderer Viruskrankheiten e.V., am 11. 12. 1975 a

Stehr, K., Ch. Epp, H. Spiess: Erste Ergebnisse mit einer kombinierten Lebendimpfung gegen Masern, Mumps und Röteln.
Mschr. Kinderheilk. 123, 410-412 (1975 b)

Stelzner, A., W. Talaska: Epidemiologische und serologische Mumpsanalysen unter Berücksichtigung Meningo-enzephalitischer Krankheitsbilder.
Dtsch.Ges.wesen 27, 2083-2089 (1972)

Stokes, J., R.E. Weibel, E.B. Buynak, M.R. Hilleman: Live attenuated mumps virus vaccine II early clinical studies.
Ped. 39, 363-371 (1967)

Stokes, J., R.E. Weibel, V.M. Villarejos, J.A. Arguedas, E.B. Buynak, M.R.Hillemann: Trivalent combined measles-mumps-rubella vaccine-findings in clinical-laboratory studies.
J.Am.Med.Assoc. 218, 57-61 (1971)

Strannegard, Ö., L. Grillner, J.-M.Lindberg: Hemolysis-in gel test for the demonstration of antibodies to rubella virus.
J.Clin.Microbiol. 1, 491-494 (1975)

Tyrell, D.A.J., M.L. Bynoe, K. Birkum, S. Petersen, M.S. Pereira: Inoculation of human volunteers with parainfluenza viruses 1 and 3 (HA_2 and HA_1).
Br.Med.J. 2, 9o9 (1959)

United States Public Health Service; Department of Health, Education and Welfare; National Communicable Disease Center, Report No. 1 (1968)

United States Public Health Service, Department of Health, Education and Welfare; Center for Disease Control: Morbidity and Mortality, 22, (1973)

United States Public Health Service ; Department of Health, Education and Welfare; Center for Disease Control: Mumps-Surveillance, January 1978 - June 1974 (1974)

United States Public Health Service; Department of Health, Education and Welfare; Center for Disease Control: Neurotropic Virus Diseases, Encephalitis Surveillance. Annual Summary 1974, (1976)

Utz, J.P., J.A. Kasel, H.G. Cramblett, C.F.Szwed, R.H. Parrott: Clinical and laboratory studies of mumps. I laboratory diagnosis by tissue-culture technics.
New Engl.J.Med. 257, 497-5o2 (1957)

Utz, J.P., C.F.Szwed, J.A.Kasel: Clinical and laboratory studies of mumps. II detection and duration of excretion of virus in urine.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 99, 259-261 (1958)

Väänänen, P.,T.Hovi, E.-P. Helle, K.Penttinen: Determination of mumps and influenza-antibodies by hemolysis-in-gel.
Arch.Virol. 52, 91-99 (1976)

Vivell, O.,R. Marquardt: Die praktische Bedeutung der Serodiagnose der Parotitis epidemica.
Dtsch.med.Wschr. 79 , 574-576 (1954)

Vivell,O.: Zur Indikation der Mumpsimpfung. Vortrag, gehalten vor dem Immunisierungsausschuß der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Kinderlähmung und anderer Viruskrankheiten e.V., am 26. 6. 1975 in Frankfurt.

Voller,A., D.E. Bidwell: A simple method for detecting antibodies to rubella.
Br.J.exp.Path. 56, 338 (1975)

Waddell,D.J.,J.R.Wilbur, T.C.Merigan: Interferon production in human mumps infections.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 127, 32o- 324 (1968)

Waterson, A.P.,R.Rott,G.Enders-Ruckle: The components of measles virus and their relation to rinderpest and distemper.
Z.Naturforsch. 18b, 377 (1963)

Weibel, R.E., J.Stokes, E.B. Buynak, J.E. Whitman, M.R. Hilleman: Live, attenuated mumps-virus vaccine. 3. clinical and serological aspects in a field evaluation.
New Engl.J.Med. 276, 245-251 (1967)

Weibel, R.E., E.B. Buynak, J. Stokes, M.R. Hilleman: Persistance of immunity four years following Jeryl Lynn strain live mumps virus vaccine.
Ped. 45, 821-826 (1970)

Weibel, R.E., J. Stokes, V.M. Villarejos, J.A. Arguedas, E.B. Buynak, M.R. Hilleman: Combined live rubella-mumps virus vaccine. findings on clinical-laboratory studies.
J.A.M. Med. Assoc. 216, 983-986 (1971)

Weibel, R.E., E.B. Buynak, J. Stokes, M.R. Hilleman: Measurement of immunity following live mumps (5 years), measles (3 years) and rubella (2,5 years) virus vaccine.
Ped. 49, 334-341 (1972)

Weibel, R.E., E.B. Buynak, J. Stokes, M.R.Hilleman: Persistance of immunity following monovalent and combined live measles, mumps and rubella virus vaccines.
Ped. 51, 467-475 (1973)

Weibel, R.E., E.B. Buynak, A.A. McLean, M.R.Hilleman: Long-term follow-up for immunity after monovalent or combined live measles, mumps and rubella virus vaccines.
Ped. 56, 38o-387 (1975)

Weibel, R.E., E.B.Buynak, A.A. McLean, M.R. Hilleman: Persistance of antibody after administration of monovalent and combined live attenuated measles, mumps and rubella virus vaccines.
Ped. 61 (1978)

Weise, H.J.: Referat, gehalten vor dem Immunisierungsausschuß der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Kinderlähmung und anderer Viruskrankheiten e.V., am 11. 12. 1975

Weller, T.H., J.F.Enders: Production of hemagglutinin by mumps and influenza A viruses in suspended cell tissue cultures.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med., N.Y. 69, 124-128 (1948)

Weller, T.H., J.M. Craig: The isolation of mumps virus at autopsy.
Am.J.Path. 25, 11o5-1115 (1949)

World Health Organization: Recommended method for the use of receptor destroying enzyme (RDE). DHEW, PHS, BDPEC, NCDC, Laboratory Program, Biological Reagents Section, Atlanta, Georgia 3o333, (1968)

Wolff, M.H., G. Marklein, K.E. Schneweis et al.: Die Verwendung der IgM-Fraktion von Patienten-Seren in der allgemeinen virusserologischen Diagnostik
Zbl.Bakt.,I.Abt.,Orig.A 227, 392-4oo (1974)

Ylinen,O., P.A. Järvinen: Parotitis during pregnancy.
Acta Obstet.Gynec.Scand. 32, 121 (1953)

Zollar, L.M., M.A. Mufson: Acute parotitis associated with parainfluenza 3 virus infection.
Am.J.Dis.Child. 119, 147-148 (197o)

9. ABKÜRZUNGEN

Ag	=	Antigen
Ak	=	Antikörper
Aqua bidest.	=	Aqua bidestillata
BME	=	Eagle's Basal Medium
Cerco-AN	=	primäre Affennieren-Zellen von Cercopithecus aethiops
CMV	=	Cytomegalievirus
DGV-Puffer	=	Dextrose-Gelatine-Veronal-Puffer
ELISA	=	Enzyme-linked immunosorbent bzw. immunospecific assay
EM	=	Erhaltungsmedium
E-MEM	=	Eagle's Minimal Essential Medium
FHE-Zellen	=	primäre Hühnerembryofibroblasten-Zellen
FITC	=	Fluoresceinisothiocyanat
FL-Zellen	=	menschliche Amnionzellen
GMT	=	geometrischer mittlerer Titer
HAH	=	Hämagglutinationshemmtest
HAD (-I)	=	Hämadsorptions(-Inhibition)Test
Hela-Zellen	=	permanente menschliche Carcinom-zellen
HIG	=	Hämolysis-in-Gel Test
HS	=	Hämolytisches System
HSV	=	Herpes simplex-Virus
IFl	=	indirekter Immunfluoreszenztest
Ig A	=	Immunglobulin A
Ig G	=	Immunglobulin G
Ig M	=	Immunglobulin M
KBR	=	Komplementbindungsreaktion
KJO_4	=	Kaliumperjodat
MEE	=	Meerschweinchenerythrozyten
min	=	Minuten
$MnCl_2$	=	Manganchlorid
NT	=	Neutralisationstest
p.a.	=	pro analysi

PBS Dulbecco (A+8)	=	phosphatgepufferte Salzlösung nach Dulbecco mit Ca^{++} und Mg^{++}
PBS pH7,2	=	phosphatgepufferte Salzlösung pH7,2
p.inf.	=	post infectionem
RDE	=	Receptor Destroying Enzyme
RIA	=	Radioimmunoassay
S-Ag	=	lösliches, an Nucleocapsid gebundenes Antigen
SSW	=	Schwangerschaftswoche
u.a.	=	unter anderem
V-Antigen	=	Virion-Antigen
Vero-Zellen	=	permanente Zellinie aus Affennieren (African Green Monkey)
WM	=	Wachstumsmedium
ZNS	=	Zentralnervensystem

LEBENSLAUF

Am 15. Juli 1952 wurde ich als Tochter des Rechtsanwalts und Notars Dr. jur. Dr. rer. pol. Hans Kuttner und seiner Ehefrau Doris, geb. Rusch, in Stuttgart geboren.

Von April 1959 bis März 1963 besuchte ich die Grundschule, von April 1963 bis Juni 1971 das Hölderlin-Gymnasium in Stuttgart.

Nach der Reifeprüfung (14. 6. 1971) begann ich in Tübingen das Studium der Biologie und bestand dort am 31. Juli 1973 das Biologie-Vordiplom.

Anschließend studierte ich in Marburg/Lahn Humanbiologie (Fachbereich Medizin) mit dem Ziel der Promotion zum Dr. rer. physiol.

Ab September 1975 arbeitete ich am experimentellen Teil meiner Doktorarbeit und im routinediagnostischen Betrieb der Virusabteilung des Medizinischen Landesuntersuchungsamtes in Stuttgart bei Frau Professor Dr. G. Enders.

Seit Juni 1978 bin ich in Homburg/Saar an der Virologischen Abteilung des Institutes für Hygiene und Mikrobiologie der Universität des Saarlandes bei Professor Dr. R. Wigand als wissenschaftliche Assistentin tätig.

Seit dem 4. August 1978 bin ich mit dem Diplom-Biologen Dr. Günther May verheiratet.

Meine akademischen Lehrer waren die Professoren

und Dozenten:

in Tübingen: Grell, Rieker, Schwemmle, Seiler

in Marburg : Braun, Enders, Karlson, Kohlhage,
Mannheim, Schiff, Schneider, Siegert,
Slencka